FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1969

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jean-Antoine BERNARD

Ancien Interne des Hôpitaux de Paris
Ancien Assistant de Biophysique Médicale à la Faculté de Médecine de Paris
Né le 8 Avril 1938, à Paris-16e

Présentée et soutenue publiquement le 6 novembre 1969

ETUDE EXPÉRIMENTALE DE L'HOMOGREFFE TRANSFIXIANTE DE CORNÉE CHEZ LE LAPIN

✳

CONSÉQUENCES ANATOMO-CLINIQUES

Président : M. OFFRET, Professeur

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, Rue Deparcieux, 29
PARIS — 1969

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1969 **THÈSE** N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jean-Antoine BERNARD

Ancien Interne des Hôpitaux de Paris

Ancien Assistant de Biophysique Médicale à la Faculté de Médecine de Paris

Né le 8 Avril 1938, à Paris-16e

Présentée et soutenue publiquement le 6 novembre 1969

ETUDE EXPÉRIMENTALE DE L'HOMOGREFFE TRANSFIXIANTE DE CORNÉE CHEZ LE LAPIN

*

CONSÉQUENCES ANATOMO-CLINIQUES

Président : M. OFFRET, Professeur

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, Rue Deparcieux, 29
PARIS — 1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MES PARENTS

A MES BEAUX-PARENTS

A MA FEMME

A MA FILLE

A MON FRÈRE, A MA BELLE-SŒUR

A MES AMIS

A Monsieur le Professeur Guy OFFRET

Professeur de Clinique Ophtalmologique
à la Faculté de Médecine de Paris
Ophtalmologiste des Hôpitaux

C'est dans son Service que j'ai découvert l'ophtalmologie moderne et que j'ai vraiment commencé à apprendre mon métier. C'est grâce à ses conseils que j'ai entrepris les quelques expériences relatées dans cette thèse, qu'il m'a fait l'honneur de présider.

Je ne le remercierai jamais assez de son enseignement et de son accueil dans son Ecole.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma profonde admiration.

A Monsieur le Professeur Paul BRÉGEAT

Professeur de Clinique Ophtalmologique
à la Faculté de Médecine de Paris
Ophtalmologiste des Hôpitaux

Il m'a accueilli avec beaucoup de bienveillance et d'amitié dans son Service.

Il m'a fait sentir avec beaucoup de chaleur, sa foi et son enthousiasme pour l'ophtalmologie. Son art opératoire restera pour moi un exemple.

C'est dans son Service que j'ai fini mon Internat ; j'ai eu le sentiment d'y mener mon apprentissage plus loin.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma gratitude.

A Monsieur le Professeur Paul PAYRAU

Professeur Agrégé du Val-de-Grâce

Il a bien voulu m'aider de ses profondes connaissances et me faire bénéficier de sa grande expérience.

Il a su créer, dans son Centre de Chirurgie expérimentale, une ambiance d'affabilité et de calme travail tout à fait remarquable.

Qu'il en soit ici très vivement et respectueusement remercié.

*Que soit également particulièrement remercié le Centre de Recherches Ophtalmologiques de de la Fondation Adolphe de Rothschild *, dont le Professeur Payrau est le directeur, et qui a permis, par sa générosité, l'impression de cette thèse.*

* 29, rue Manin, 75-Paris-19e

A Monsieur le Professeur Agrégé Yves POULIQUEN

Ophtalmologiste des Hôpitaux

Il a bien voulu inspirer et guider cette thèse, et tout particulièrement dans le chapitre histologique.

Il est pour moi l'image de l'ophtalmologie dynamique qui conjugue l'observation fine, l'opération déliée et le labeur permanent de la recherche.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma reconnaissance et de mon admiration

A Monsieur le Docteur Louis POLLIOT

Ophtalmologiste des Hôpitaux

Sa sagesse et ses conseils me furent bien souvent utiles.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

A Monsieur le Docteur Pierre BLANCARD

J'ai découvert l'ophtalmologie dans son Service.

Qu'il veuille bien accepter mes remerciements.

A Monsieur le Docteur Christian HAYE

Dont la finesse, l'intelligence et l'humour m'ont fait comprendre bien des aspects de ma profession.

Son enseignement, lié à l'amitié qu'il a bien voulu me témoigner, restera pour moi un vivace souvenir.

A Monsieur le Docteur René CAMPINCHI

Ophtalmologiste des Hôpitaux

A Monsieur le Docteur André FOREST

Ophtalmologiste des Hôpitaux

A Monsieur le Docteur Marc-Adrien DOLLFUS

Ophtalmologiste Honoraire des Hôpitaux

A MES MAITRES D'EXTERNAT

Monsieur le Docteur André DUFOUR

Monsieur le Docteur Maurice CHAMPEAU (*in memoriam*)

Monsieur le Docteur Lucien ROUQUES

Monsieur le Docteur Jacques CAROLI

Monsieur le Professeur Jean BERNARD

Monsieur le Professeur René BASTIN

Monsieur le Professeur Maxime SELIGMANN

Monsieur le Professeur Julien MARIE

Monsieur le Docteur H.-P. KLOTZ

A MES MAITRES DE BIOPHYSIQUE MÉDICALE

Monsieur le Professeur KELLERSHON

Monsieur le Professeur ALBARÈDE

Monsieur le Professeur TUBIANA

A MES COLLÈGUES ET AMIS

Michèle BONSCH-LUCCIANI - Mireille BOUTIER

Claude CLAY - Gabriel COSCAS

Philippe DEMAILLY - Pierre-Alain DORNE

Antoine ESTA - Gérard DE ROLLAT

Anne-Gabrielle GAJDOS - Pierre GIRARD

Dominique GUYOT - Henri HAMARD

Jean HAUT - Pierre-Joel LECOQ - Sylvie LIMON

Henri MONDON - Bernard PIVOTEAU

Françoise ROUSSELIE - Robert SICAULT

Avec qui j'ai passé, à l'hôpital, des heures mémorables.

Au Docteur BLANLUET

Qui, de façon strictement désintéressée, m'a aidé dans mes débuts.

Au Docteur Charles ZAFFIRI

Dont la fidélité aux "Mercredis de Rothschild" a été bien précieuse.

Que soient également particulièrement remerciés pour leur aide amicale :

— le Docteur J.-P. FAURE

— Madame J. BISSON

— Mademoiselle YONG ZA KIM

— Madame MASSONI-CRINQUETTE

— Madame DOS SANTOS

Et d'une façon générale tout le Personnel du Laboratoire de la Clinique Ophtalmologique de l'Hôtel-Dieu (Professeur Guy Offret) et du Centre de Recherches Ophtalmologiques (Professeur Paul Payrau)

Mes remerciements iront également au Centre de Documentation Chibret pour l'aide inappréciable qu'il a fournie.

INTRODUCTION

Le but de ce travail est triple :

1° Rappeler la technique de la *kératoplastie transfixiante sur le lapin,* telle qu'elle est pratiquée de façon actuellement routinière dans le Centre de Chirurgie Expérimentale de la Fondation Adolphe de Rothschild à Paris *.

2° Préciser sur une série de plus de 60 expériences *comment se comporte un greffon perforant homologue,* nous révélant notamment l'existence de réactions d'aspect immunitaire entre des lapins *non stimulés* sur le plan antigénique.

3° Enfin étudier les *conséquences anatomo-pathologiques* de ces homogreffes, en microscopies optique et électronique (Laboratoire d'Anatomie et de Structure Oculaire de la Clinique Ophtalmologique de l'Hôtel-Dieu de Paris *).

L'ensemble de ce travail permettant de définir les bases de nombreuses études expérimentales ultérieures.

(*) Appartenant au groupe U 86 de l'I.N.S.E.R.M.

PLAN

1° Généralités sur les greffes de tissus, les kératoplasties et leurs problèmes immunologiques, l'historique de l'expérimentation animale.

2° Notre technique de l'homogreffe chez le lapin.

3° Observations des 61 kératoplasties de l'expérimentation.

4° Interprétation des aspects cliniques évolutifs :

a) Greffons clairs.

b) Greffons opaques.

c) Complications.

d) Analyse des lapins « croisés ».

5° Interprétation des résultats histologiques :

a) La cornée normale de lapin.

b) Les techniques histologiques utilisées.

c) Les résultats :

— correspondance entre aspect clinique et données histologiques ;

— aspect typique de l'homogreffe transparente ;

— altérations histologiques du greffon opaque.

6° Commentaires généraux et conclusions.

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LES GREFFES DE TISSUS, LES KERATOPLASTIES ET LEURS PROBLEMES IMMUNOLOGIQUES. L'HISTORIQUE DE L'EXPERIMENTATION ANIMALE EN OPHTALMOLOGIE

1) Le rejet des homogreffes

C'est un phénomène immunologique lié à une différence antigénique contrôlée par des gènes d'histo-compatibilité.

Le rejet procède :

— soit de l'hypersensibilité retardée : des cellules sensibilisées attaquent les cellules du greffon. L'exemple historique en est le phénomène de Koch, où l'on a démontré que les fractions protéiques (tuberculine) du B.K. déclenchent cette réaction. Histologiquement, on retrouve l'accumulation des cellules lympho-histiocytaires au point d'élection de l'antigène ;

— soit de l'hypersensibilité liée aux anticorps élaborés par certaines cellules du système réticulo-histiocytaire. Ces anticorps sont des protéines qui forment le groupe des globulines dont la disposition spatiale fournit des « sites réactifs » leur permettant de se combiner spécifiquement avec certaines configurations chimiques caractéristiques des antigènes qui leur ont donné naissance.

Les opinions divergent sur l'importance respective de ces deux phénomènes. Il semble bien que le rôle des cellules sensibilisées soit prépondérant. De toute façon, tous deux résultent de la stimulation de cellules appartenant au même tissu « lymphoïde » et les mêmes procédés sont utilisés pour accroître ou combattre ces deux éléments.

2) Les kératoplasties et leurs problèmes immunologiques propres

Particulière en effet est la cornée, organe privilégié s'il en est, pour les homogreffes :

— faible pouvoir antigénique puisque pauvre en cellules ;
— pas de vascularisation, du moins à l'état normal ;
— faible spécificité.

Cependant, malgré tous ces éléments favorables, le rejet existe aussi pour les greffes de cornée. Et ce qui rend le moindre rejet si sensible est le rôle *optique* de la cornée, dont la moindre altération — qui ailleurs serait compatible avec une fonction tolérable — est ici immédiatement sanctionnée sur le plan visuel.

Quel est le sort de chacun des trois constituants de la cornée dans une greffe totale : épithélium, stroma, endothélium ?

a) L'épithélium :

C'est lui dont la population cellulaire est la plus abondante et il représente de très loin l'élément le plus antigénique. Une fois transplanté, il desquame très rapidement, mais il est remplacé en quelques jours par l'épithélium de l'hôte. En chirurgie humaine, beaucoup l'enlèvent systématiquement au cours de l'intervention.

Par conséquent, l'épithélium n'intervient absolument pas dans la réaction immunitaire.

b) Le stroma :

C'est un tissu conjonctif modelé possédant relativement peu de cellules et pas du tout de vaisseaux.

Nous savons que la substance fondamentale de tous les tissus conjonctifs peut être transplantée très facilement en homo et même en hétérogreffe. Le stroma cornéen doit donc « prendre » sans aucune difficulté, comme l'os, le cartilage, le tendon, les vaisseaux. Le stroma greffé semblerait ainsi une greffe conjonctive pure, dite « de Nageotte », dans laquelle la trame constitutive et l'élément vivent n'interviennent pas. Ce n'est pas strictement vrai :

Les *kératocytes,* bien que rares, existent et survivent longtemps ; on en a retrouvé au bout de deux ans après la greffe. Mais ils ont un pouvoir antigénique peu important. Les *protéines sériques* imprégnant la cornée sont plus ou moins antigéniques et diffusent rapidement après la greffe. Les *composants du stroma :* le collagène est très peu antigénique ; les *glycoprotéines* (mucopolysaccharides) sont dans l'ensemble éliminées, mais on en isole une, la *kératoglycosaminoglycane* (KGAG), dont la forme fixe imprègne, recouvre les fibrilles, tandis que la forme soluble, diffusant rapidement, irait alerter les cellules immunologiquement compétentes (Robert et coll.).

c) En réalité, les greffes lamellaires sont très bien tolérées tant en expérimentation animale (à moins d'une sensibilisation antérieure : greffe de peau homologue préparatoire chez le lapin [Pollack]), qu'en pratique humaine.

C'est l'*endothélium qui a un rôle capital :*

— quoique moins élevées que pour l'épithélium, les protéines tissulaires des cellules endothéliales ont un pouvoir antigénique important ;

— ces cellules — reconnues, comme nous le verrons, grâce au marquage isotopique ou par sexe chromatinien — sont parfois également retrouvées deux ans après la greffe. Bien que leur puissance antigénique semble diminuer au cours des mois, ceci peut expliquer certains troubles tardifs ;

— enfin la couche endothéliale est mince, unicellulaire, par conséquent très fragile, et son pouvoir de régénération est faible.

Or, cette couche est — comme on le sait — indispensable au maintien de la transparence de la cornée, car c'est elle qui

— par sa « pompe à eau » — assure sa déturgescence, c'est-à-dire conserve la cornée dans un état de sous-hydratation, faute de quoi elle gonfle et devient opaque.

* *

Ainsi la défaillance endothéliale est la grande responsable de l'échec de la greffe de cornée. L'attaque de l'endothélium peut — nous l'avons vu — être le fait, soit des anticorps, soit des cellules immunologiquement compétentes elles-mêmes.

a) Le rôle des anticorps paraît expérimentalement important dans les hétérogreffes (Watanabe, Tsutsui, Remky, Gedda, Milani-Camparetti). Quoique ne concernant pas la greffe, le phénomène de Wessely (1911) — où coexiste, en outre, une réaction lymphoplasmocytaire — est également une illustration du rôle du conflit antigène-anticorps, et dans leur rapport sur la transparence de la cornée, Payrau, Pouliquen, Faure et Offret en ont décrit deux cas cliniques.

Dans les homogreffes, des travaux ont fait état d'anticorps antigreffons dans le sérum (Tsutsui et Watanabe, 1961, et Nelken, 1965, chez l'homme ; Lanzieri chez le lapin).

En fait, ces notions sont très vivement contestées par de nombreux auteurs qui n'ont pas retrouvé ces anticorps anticornée et qui considèrent que leur rôle est négligeable en homogreffe, sauf peut-être dans certaines opacifications tardives du greffon qui pourraient être dues à une diffusion lente des globulines à travers le stroma (rapport S.F.O., 1967).

b) Les cellules immunisées contre l'endothélium :

— peuvent partir du *limbe,* comme les travaux expérimentaux de Pollack l'ont bien montré (à condition, répétons-le, de sensibiliser le lapin par une greffe de peau);

— ou bien partent du *système lymphoïde de l'uvée antérieure ?* Par l'intermédiaire de l'humeur aqueuse, ces cellules immuno-

logiquement compétentes se dirigeraient vers la greffe pour y exercer leur action cytotoxique directe.

Le mécanisme (précipités endothéliaux, éventuellement Tyndall cellulaire de l'humeur aqueuse) paraît très important en pathologie humaine[1]. Nous avons essayé de le mettre en évidence chez le lapin ; nous avons — comme on le verra — cru entrevoir des précipités endothéliaux. Mais nous n'avons pas encore obtenu de certitude histologique, ce qui nous interdit de nous prononcer pour l'instant.

3) Historique de l'expérimentation animale

Les premiers travaux suivis sont ceux de J.W.T. Thomas et de R. Castroviejo dans les années 1930, et également ceux de L. Venco en 1946. En 1948, L. Paufique, G.P. Sourdille, G. Offret dans leur rapport princeps sur les kératoplasties — s'appuyant sur ces travaux et leur propre expérimentation — ont donné une description de la greffe expérimentale chez le lapin que nous nous permettons d'utiliser en la résumant :

« Le premier phénomène biologique qui se produit est la formation d'un caillot fibrineux issu de l'humeur aqueuse. Ce caillot qui se dépose à la périphérie du transplant par coagulation de l'humeur aqueuse de seconde formation rétablit l'étanchéité de la chambre antérieure qui se reforme.

« Dans les jours qui suivent, se produit un œdème de teinte bleutée, localisé aux bords de la plaie et du greffon. Il est parfois assez intense pour marquer quelque temps les détails de la chambre antérieure à travers le greffon.

« La cohésion hôte-greffon s'établit de plus en plus solidement pour être inébranlable au bout d'un mois.

« A cette évolution correspondent différentes phases histologiques :

« — La réparation épithéliale est essentiellement le fait de *l'hôte*.

---

(1) Rapport S.F.O., 1967. Thèse D. Guyot, Paris, 1969.

« — Parallèlement, en profondeur, l'endothélium prolifère et, de chaque côté de la Descemet enroulée, il rétablit sa continuité par un pont de cellules. On remarque au début l'œdème des bords (augmentation d'épaisseur des lames) et la nécrose des cellules au niveau de la section.

« Il est difficile de savoir si toutes les cellules fixes du greffon meurent. Castroviejo ne l'indique pas dans son travail expérimental : il semble même penser le contraire, puisqu'il écrit qu'il ne trouve aucun changement tissulaire pouvant suggérer que les éléments cellulaires du transplant sont remplacés par ceux qui les environnent.

« La membrane de Bowman n'est pas remplacée. Par contre, l'endothélium refait une membrane anhiste entre les deux fragments enroulés de la Descemet.

« L'épaisseur est la même sur l'hôte et sur le transplant. Elle est un peu supérieure à la normale à cause de l'infiltration œdémateuse interlamellaire.

« L'incision du trépan est aveuglée, d'une part grâce à la fibrine dont le rôle est très important chez le lapin, puisque l'humeur aqueuse y est tellement fibrineuse que cela en *gêne* considérablement la réalisation de la kératoplastie perforante expérimentale ; d'autre part avec l'iris qui vient au contact de la plaie : la présence d'éléments pigmentés souligne cette synéchie antérieure. »

* *

Ces résultats, quoique remarquables pour l'époque, présentèrent donc de gros inconvénients sur le plan expérimental : la prise en masse de l'humeur aqueuse et la constante synéchie irido-cornéenne sur pratiquement 360° donnaient toutes sortes de raisons mécaniques aux échecs extrêmement fréquents des greffes expérimentales chez le lapin, particulièrement sur le plan de la transparence.

Stansburg (1947), Lans (1951), Cleasby (1965), quoique améliorant la technique, présentèrent des séries de greffes entachées d'opacification et de synéchies importantes.

Certains auteurs utilisèrent le chien ou le chat, mais ce sont des animaux qui coûtent plus cher et sont parfois de manipulation difficile sinon dangereuse.

Le lapin restait l'animal pratique, facile à entretenir, opérable dans des conditions expérimentales aisément reproductibles.

L'utilisation de l'héparine pour combattre la coagulation fibrineuse de l'humeur aqueuse, et des fils de suture modernes, allait permettre des progrès qui rendaient la kératoplastie transfixiante dès lors pleinement utilisable pour l'expérimentation. En 1967, Sicault et Payrau décrivent leur premier protocole opératoire, simplifié par ces auteurs et nous-mêmes dans une étude récente (mars 1969). C'est de ces premières études en autogreffe (94 % de succès : greffon parfaitement clair, pas de synéchie à aucun moment de l'évolution, cristallin et iris indemnes) que découle le travail que nous exposons ici sur les homogreffes. C'est grâce à ces études préliminaires qu'il nous a été possible de l'entreprendre et de le mener à bien, mais aussi et surtout grâce au merveilleux accueil du Professeur Payrau au sein de son unité de chirurgie expérimentale, à l'enseignement précieux de mon ami le Docteur Sicault, à la collaboration si sympathique des Docteurs Lecoq et Zaffiri, de Mesdames Froment et Dos Santos, infirmières-panseuses de la Fondation A. de Rothschild, grâce enfin à l'aide bienveillante de mes Maîtres, les Professeurs Offret et Pouliquen, ainsi que du Docteur J.-P. Faure, de Madame J. Bisson, de tout le Laboratoire d'Ophtalmologie de l'Hôtel-Dieu de Paris.

Avant de rappeler notre technique de kératoplastie expérimentale chez le lapin, nous aimerions résumer un intéressant article publié entre temps par Khadadoust, en 1968, dans l'*American Journal :* « Penetrating keratoplasty in the rabbit ».

Cet auteur utilise le lapin géant albinos de Nouvelle-Zélande, pesant 2 à 3 kg, dont la cornée a en moyenne les dimensions suivantes : diamètres horizontal : 15,6 mm, vertical : 13,8 mm ; épaisseur : 0,37 mm au centre et 0,45 près du limbe.

Mydriase pré-opératoire systématique par néosynéphrine 10 % et homatropine 5 %. Maintien du globe par deux fils, l'un sous le droit supérieur, l'autre sous le droit inférieur.

Héparine dès l'ouverture de la chambre antérieure par le trépan, mais pas avant. Instillation toutes les dix minutes pendant l'intervention.

Trépan de 8 mm.

Utilisation d'un microscope opératoire de grandissement 16 x.

Fils : soie vierge 8-0 ou nylon noir 30 μ ; 12 à 16 sutures soit par points séparés, soit par surjet et alors les points de cadre préparatoires sont ôtés quand le surjet est noué.

En fin d'intervention, on attend sous microscope que la chambre antérieure se reforme. Sinon injection d'air.

Examen biomicroscopique quotidien, antibiotiques systématiques, atropine à la demande.

Résultats sur 100 lapins : 90 % de succès, c'est-à-dire greffon clair et pupille ronde. 30 cas de synéchies sont cependant notés, dont certaines ont pu être rompues au cours de l'évolution post-opératoire. Apparition d'une *importante vascularisation* dans presque tous les cas, que l'ablation des fils permettrait de réduire. Ces vaisseaux sont considérés favorablement par l'auteur qui se propose l'étude de la réaction immunitaire exagérée par l'apport sanguin.

Mais cet appel vasculaire nous a toujours paru si considérable pour les greffons de grande taille que nous ne faisons pas d'autre dimension que 5 mm pour les kératoplasties chez le lapin. Si nous avions la possibilité d'examiner l'animal tous les jours, de le traiter quotidiennement par antibiotiques, cortisone, éventuellement atropine, peut-être pourrions-nous agrandir nos greffons en conservant un taux de succès suffisant.

* *

Ainsi, grâce à la kératoplastie chez le lapin, un certain nombre d'études ont été menées. Etude histologique du rejet sur lapins sensibilisés par greffe cutanée du lapin donneur (Pollack). Sort — si intéressant sur les plans à la fois pratique et spéculatif — des cellules greffées : on admet actuellement la longue durée de l'endothélium dès l'instant que le greffon reste clair. Les cellules ont été marquées soit par la thymidine tritiée (marquage isotopique), soit plus souvent par le biais du sexe chromatinien (Espiritu, Kara, Tabowitz-Citroni, Carli, Carli-Nuzzo, Basu, Sarkar, Carré-Basu, Miller, Ormsby-Malik, Gupta, Sota). Ces derniers auteurs ont utilisé des lapins de 1 à 2 kg homogreffes 50 croisées entre

mâle et femelle, puis à des délais variables, décompte des cellules endothéliales, chez qui l'on note la présence du sexe chromatinien. Résultats : greffes transparentes, cellules endothéliales du donneur retrouvées jusqu'à cinq mois (durée de l'étude menée par ces auteurs); greffes opaques : l'endothélium du donneur y a disparu parfois après seulement dix jours. Des études analogues sont en cours dans notre laboratoire.

D'autres auteurs ont étudié le rôle des anticorps (Sanna). Le rôle du groupage sanguin des lapins qui conditionnerait, selon compatibilité de groupe ou non, la prise de la greffe, a été souligné par Nelken et coll. Ces notions ont été souvent vivement combattues (H.J. Meyer).

Enfin l'influence de la corticothérapie et des immuno-suppresseurs sur le rejet a été souvent testée expérimentalement (Kern et coll. : la cortisone ; Cleasby et coll. : la prednisolone et l'azathioprine (Immurel * en France, Immuran * des anglo-saxons); Pollack : l'azathioprine également ; enfin récemment l'effet du sérum antilymphocytaire par Smolin sur l'homogreffe de lapins sensibilisés, et Tsumura sur l'hétérogreffe bœuf sur le lapin).

Le but de notre travail est plus modestement :

— de faire une étude systématique de la tolérance éloignée du greffon ;
— de pratiquer un examen histologique structural et ultra-structural d'un certain nombre de cas ;
— d'essayer de comprendre les causes d'échecs, donc d'opacité cornéenne permettant de démembrer « la maladie du greffon » conçue souvent dans son sens large comprenant les troubles trophiques, mécaniques, cicatriciels et immunitaires.

CHAPITRE II

TECHNIQUE DE L'HOMOGREFFE CHEZ LE LAPIN

Telle que nous la pratiquons pour nos expérimentations.

1) Les conditions d'asepsie opératoire sont peu rigoureuses

Certes, nous avons des boîtes d'instruments stériles et nous nous lavons les mains avant chaque intervention. Par contre, il n'y a aucune désinfection de la zone palpébrale qui se trouve dans le champ opératoire. Malgré cela — comme on le verra — nous n'avons que fort peu d'infection post-opératoire.

2) Anesthésie

— Nembutal en injection intra-veineuse lente, à raison de 30 mg/kg environ.

— Cette anesthésie dure presque une heure et donne un sommeil profond.

— Mais cette anesthésie est sûrement, dans ce protocole, ce qui pose le plus de problèmes :

Certains lapins ont une résistance étonnante à ce barbiturique et l'intervention est émaillée de mouvements intempestifs, surtout dès que l'iris — très sensible — est exposé. Dans quelques cas, on est donc amené à réinjecter une dose supplémentaire de nembutal, mais il faut le faire avec une grande prudence. C'est alors surtout — mais aussi bien souvent de façon strictement inopinée — que se produit un arrêt respiratoire, bien difficile à combattre par le massage thoracique.

On peut estimer la perte par accident anesthésique per ou immédiatement post-opératoire à 20 % environ.

3) Matériel

a) Fils :

— Soie vierge 8-0 ; soie noire 7-0.
— Fil de traction : soie tressée 0.

b) Instruments :

— Blépharostat de Corcelle.
— Porte-aiguille de Vantey-Desvignes.
— Porte-aiguille de Barraquer.
— Quatre pinces de Kocher.
— Ciseaux de Brégeat demi-courbe mousse.
— Ciseaux de Vannas courbe.
— Ciseaux de Streiff-Offret.
— Scarificateur de Desmarres.
— Couteau d'Arruga pour kératoplastie.
— Pince de Paufique.
— Trépan de 50.
— Pince colibri.
— Spatule porte-greffon large.
— Seringue de 1 cm^3 à embout américain, avec aiguille fine n° 3 pour PCA-héparine.
— Seringue de 20 cm^3 avec mandrin n° 35/12 pour la ponction du vitré.

4) Compte rendu opératoire (C.R.O.)

a) Dès le début de l'intervention, nous mettons en place QUATRE FILS CARDINAUX SUR LE GLOBE, deux sous les droits supérieur et inférieur, deux prenant appui en dedans et en dehors sur la sclère elle-même. Ceci permet une bonne exposition, en même temps que la troisième paupière se trouve écartée sans être traumatisée.

b) Nous continuons à faire une PONCTION DE VITRÉ : incision conjonctivale au limbe permettant de dégager un quadrant de sclère, en évitant de blesser une veine vortiqueuse. Boutonnière sclérale à 5 ou 6 mm de libre, avec point en U préparé pour la fermeture qui sera le dernier temps opératoire. La ponction elle-même, faite à la seringue montée sur un gros mandrin, ne sera faite qu'après utilisation du trépan.

Cette ponction, qui peut sembler un peu brutale, nous apparaît pour le moment la seule méthode permettant de combattre avec une efficacité régulière la propulsion du cristallin vers l'avant dès que la C.A. est béante. Pour éviter les reproches qu'on peut faire à ce geste traumatisant, nous étudions pour l'avenir possibilité d'utiliser en per-opératoire une perfusion hypotonisante.

c) Préalablement à la trépanation, PONCTION DE LA CHAMBRE ANTÉRIEURE (P.C.A.) au limbe à l'aiguille fine : on aspire l'humeur aqueuse première, très riche en fibrine, qu'on remplace par de l'*héparine* en solution à 25 mg/cm^3. Malgré cette concentration élevée, elle ne nous paraît donner aucune réaction endothéliale.

L'instillation ultérieure d'héparine en goutte à goutte n'est pas nécessaire, l'humeur aqueuse seconde ne coagulant que très peu et pas avant quarante à quarante-cinq minutes ; à ce moment, la kératoplastie est en général terminée.

d) Taille du greffon :

D'abord au trépan de 50, en essayant d'inciser la cornée sur la plus grande circonférence possible, et sans blesser iris et cristallin qu'on a eu soin de refouler en A.R. en « regonflant » la C.A. par l'héparine.

Puis, avant de poursuivre, on aspire le vitré par la boutonnière préparée précédemment. Cette boutonnière ne sera fermée qu'en fin d'intervention.

On termine alors la taille du greffon au couteau droit de Paufique ou, plus aisément, aux ciseaux de Vannas. C'est là encore un temps opératoire un peu délicat, car c'est toujours au cours de cette manœuvre que l'on risque de mâchurer le greffon ou de décoller partiellement le plan endothélio-descemétique qui, chez le lapin, se clive très facilement. C'est avec l'expérience qu'on arrive à éviter cet écueil.

e) On pose alors le greffon sur une *spatule large*, par sa face épithéliale. On échange le greffon entre les deux lapins opérés parallèlement. Il est commode d'opérer à deux, chacun sur un lapin, mais, en combinant les temps opératoires, il est très aisé de mener de front les deux interventions.

f) La mise en place des sutures reste le temps essentiel ; faites à la soie vierge, elles comportent :

— Quatre points cardinaux.

— Et un surjet passé trois fois dans chaque quadrant, qui doit l'être *très régulièrement*, et dont les extrémités sont nouées.

Cette suture assure une bonne étanchéité, à condition d'être effectuée avec rigueur. Chaque point doit être assez large et solide, mais rester en avant de la Descemet. L'utilisation d'un microscope opératoire n'étant, pour le moment, pas possible, nous utilisons personnellement des lunettes de grandissement 2 x.

Ce surjet doit être serré au fur et à mesure, de façon à bien affronter les deux berges cornéennes, mais sans tension excessive, même localisée, afin d'éviter une nécrose secondaire, puis une zone de déhiscence où viendrait s'adosser l'iris.

g) En fin d'intervention, une BULLE D'AIR est introduite dans la chambre antérieure, en passant avec la même aiguille fine par le point de ponction limbique précédemment utilisé pour injecter l'héparine. On peut alors juger de l'étanchéité du surjet. Aucune fuite, même minime, ne doit être tolérée pour admettre que la kératoplastie est techniquement valable. Nous créons même, lors de cette injection, une hyperpression volontaire pour dépister la moindre déhiscence qu'obturerait un point séparé supplémentaire. Lors du réveil et les jours suivants, le lapin, bien qu'il ne se gratte pas, s'expose à des traumatismes oculaires, c'est dire combien le surjet doit pouvoir résister à une hyperpression importante et brusque : étanche en fin d'intervention, il le reste généralement les jours suivants.

h) Grâce à cette méthode assez simple, nous réalisons une KÉRATOPLASTIE EN QUARANTE MINUTES ENVIRON.

Nous ne protégeons pas la greffe par suture des paupières ou cache en carton : ces procédés sont souvent cause d'infection. Nous nous contentons de mettre un peu de pommade antibiotique dans les culs-de-sac conjonctivaux et nous replaçons immédiatement le lapin dans sa cage, où il doit être seul pour éviter une rixe avec un congénère. Le rôle physiologique des paupières pour assurer la protection de la greffe a toujours été suffisant si le surjet a été convenablement exécuté.

Ce dernier s'élimine presque toujours spontanément entre le quinzième et le vingt et unième jour. Passé ce délai, ou même un peu avant s'il devient une cause d'appel vasculaire, il faut l'enlever sous une bouffée d'anesthésie générale.

CHAPITRE III

ETUDE DES 61 OBSERVATIONS DE KERATOPLASTIES EXPERIMENTALES SUR LAPIN

N.B. : Les numéros des lapins ne se suivent pas, ni ne sont toujours progressifs pour deux raisons :

— le décès d'un certain nombre de lapins ;

— le fait que le même marqueur servait à plusieurs équipes de recherche.

Il y a deux séries de numéros. Première série « grise ». On marque par exemple 50 « G » ; deuxième série « rouge » : on marquera 6 « R ». Ceci vient de la couleur des marques fixées sur l'oreille de l'animal.

* *

1. OBS. 50 G — Intervention le 13 février 1968. Compte rendu opération (C.R.O.) : mauvais surjet. Donneur : mort. Suites opératoires : rétraction du greffon. Recul : 4 mois, 1 semaine.

2. OBS. 52 G — Intervention le 20 mars 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur inconnu. Suites : beau greffon. Recul : 7 semaines.

3. OBS. 54 G — Intervention le 20 mars 1968. C.R.O. : on ajoute un point sur une fuite en fin d'intervention. Donneur inconnu. Suites : greffon superbe. Recul : 7 mois 10 jours.

4. OBS. 55 G — Intervention le 3 avril 1968. C.R.O. : mauvais greffon. Incidents d'anesthésie : rupture de deux fils qu'on est amené à reposer. Donneur : mort. Suites : opacification « mécanique » du greffon. Aucune réaction inflammatoire ou vasculaire. Recul : 3 mois 1/2.

5. OBS. 58 G — Intervention le 3 avril 1968 — C.R.O. : sans incident. Donneur : mort. Suites : bien, mais anneau limitant marqué. Recul : 2 mois 1/2.

6. OBS. 59 G — Intervention le 3 avril 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : lapin 60 G. Suites : bien, mais anneau limitant marqué. Recul : 2 mois 10 jours.

7. OBS. 60 G — Intervention le 3 avril 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : lapin 59 G. Suites : greffon opacifié œdémateux, vascularisé. Recul : 3 mois.

8. OBS. 67 G — Intervention le 17 avril 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : 68 G. Suites : bien, mais anneau limitant. Recul : 1 mois 3 semaines.

9. OBS. 68 G — Intervention le 17 avril 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : 67 G. Suites : bien, mais anneau limitant. Recul : environ 2 mois (lapin décédé).

10. OBS. 72 G — Intervention le 16 mai 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : 73 G. Suites : beau greffon. Recul : 8 mois.

11. OBS. 73 G — Intervention le 16 mai 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : 72 G. Suites : infection. Lapin sacrifié. Recul : 1 mois 10 jours.

12. OBS. 74 G — Intervention le 19 juin 1968. C.R.O. : surjet médiocre. Donneur : 75 G. Suites : œdème précoce assez important. Au 45e jour : bon résultat avec anneau limitant marqué. Finalement, greffon très beau. Recul : 10 mois.

13. OBS. 75 G. — Intervention le 19 juin 1968. C.R.O. : ouverture per-opératoire de la cristalloïde, pas de masses dans la chambre antérieure. Suites : œdème très important de la cornée réceptrice, puis surinfection. Animal sacrifié.

14. OBS. 76 G. — Intervention le 26 juin 1968. C.R.O. : un point pour fermer une fuite, en fin d'intervention. Suites : œdème de la cornée réceptrice, puis sclérose rétractile du greffon. Recul : 7 mois.

15. OBS. 77 G — Intervention le 26 juin 1968. C.R.O. : importants incidents opératoires et anesthésiques. Finalement : hyphéma, fuites nombreuses à l'injection d'air dans la chambre antérieure (C.A.). L'intervention est considérée comme un échec. Suites : au 15e jour, œdème massif de la cornée et du greffon ; on note la présence d'une C.A. Cinq semaines : bon aspect du greffon. Puis « beau greffon » avec un recul de 8 mois.

16. OBS. 79 G — Intervention le 9 juillet 1968. C.R.O. : surjet médiocre. Donneur : mort. Suites : greffon transparent, mais important anneau limitant. Recul : 8 mois.

17. OBS. 83 G — Intervention le 17 juillet 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : mort. Suites impeccables. Recul : 7 mois 1/2.

18. OBS. 84 G — Intervention le 24 juillet 1968. C.R.O. : greffon mâchuré. Donneur : mort. Suites : synéchies, greffon opalescent, puis sclérosé et rétracté avec vascularisation importante. Recul : 5 mois.

19. OBS. 86 G — Intervention le 26 juillet 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : mort. Suites excellentes. Recul : 6 mois.

20. OBS. 88 G — Intervention le 8 août 1968. C.R.O. : fuite en fin d'opération, colmatée par un fil supplémentaire. Donneur : mort. Suites : bien, mais anneau limitant important. Recul : 6 mois.

21. OBS. 90 G — Intervention le 8 août 1968. C.R.O. : fuite, colmatée par un point supplémentaire. Donneur : 91 G. Suites : opalescence du greffon ; quelques précipités en périphérie. Recul : 13 mois.

22. OBS. 91 G — Intervention le 8 août 1968. C.R.O. : fuite, colmatée par un point supplémentaire. Donneur : 90 G. Suites : membrane rétro-cornéenne sur la moitié inférieure du greffon. Pas de vaisseaux. Recul : 8 mois 1 semaine.

23. OBS. 95 G — Intervention le 28 août 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : mort. Suites : excellent greffon. Recul : 3 mois 1/2. *Histologie classique* (*planche A*) : absolument parfait. L'anneau limitant est quand même visible, sous forme d'un petit décalage de la membrane de Descemet. L'endothélium est continu. Extrême régularité de l'épithélium. L'examen en *lumière polarisée* confirme le respect des structures du stroma (*planche B*).

24. OBS. 96 G — Intervention le 4 septembre 1968. C.R.O. : sans incident. Suites : greffon opaque et vascularisé. Recul : 3 mois 8 jours.

25. OBS. 97 G — Intervention le 4 septembre 1968. C.R.O. : une fuite que colmate un point supplémentaire. Suites : sclérose rétractile du greffon, synéchie inférieure. Recul : 7 mois.

26. OBS. 2 R — Intervention le 9 septembre 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : mort. Suites : membrane rétro-cornéenne. Recul : 4 mois.

27. OBS. 11 R — Intervention le 3 octobre 1968. C.R.O. : sans incident apparent. Suites : greffon opaque plus cataracte traumatique. Recul : 2 mois 20 jours.

28. OBS. 6 R — Intervention le 17 octobre 1968. C.R.O. : deux points supplémentaires. Donneur : mort. Suites : 30e jour, greffon magnifique ; 50e jour : greffon opalescent, épaisseur augmentée, plis descemétiques ; pas de précipités, pas de membrane rétro-cornéenne. L'évolution clinique est donc analogue à celle si souvent observée chez l'homme.

L'étude histologique de ce greffon a pu heureusement être assez poussée :

1° *Coupe semi-fine :* dans la région de l'anneau limitant, on peut voir une population cellulaire importante éventuellement fibroblastique. Ces fibroblastes sont situés dans le plan des faisceaux de tissu conjonctif. Des vaisseaux à paroi endothéliale très nette occupent cet anneau limitant. Certains sont vastes, de diamètre 60 à 80 μ ; leur contenu est presque exclusivement constitué d'hématies. Très peu de cellules inflammatoires. On découvre dans le stroma quelques cellules à gros noyau et petit cytoplasme, du type lymphocyte et quelques cellules en picnose (*planche C*).

2° *Microscopie électronique :*

a) *Au niveau de l'anneau limitant :*

— épithélium normal, caractéristique du lapin par la présence de nombreuses cellules sombres polygonales ;

— la zone sous-épithéliale est faite d'un stroma remanié dont la région superficielle est habitée de kératocytes au cytoplasme altéré, vacuolé, un réticulum plus ou moins bien conservé, mais visible (*planche E*). Au voisinage de ces kératocytes, existent quelques cellules rondes à leur contact, de type mono-histiocytaire (début de macrophagie ? *planche H*). La région la plus profonde est occupée par une fibrillogénèse intense, caractéristique de l'anneau limitant. Les kératocytes sont nombreux, au réticulum endoplasmique très développé. On observe des microfibrilles dans leur voisinage (*planche F*).

Il faut signaler en outre, dans la zone sous-épithéliale, la présence de capillaires, et un paquet de nerfs myéliniques et amyéliniques (*planche D*).

b) *Au niveau de l'ensemble de la greffe,* les kératocytes montrent tous des signes d'activité supérieure à la normale, mais certains paraissent altérés (appartiennent-ils, les uns au donneur, les autres au receveur ? ou picnose normale ?).

Il y a peu de cellules différentes des kératocytes, quelques plasmocytes (*planche G*) et, dans certains endroits, de nombreux macrophages. La membrane de Descemet est continue, mais, en certains endroits dédoublée. A sa face postérieure, existe un endothélium bien visible : il est parfois normal ; ailleurs, il est constitué de cellules très claires au cytoplasme vacuolé. En certains endroits, il semble que manquent des liaisons intercellulaires et que les deux cellules voisines sont séparées par un espace. Au fond de cet espace, au contact de la Descemet, il semble exister un dépôt dense aux électrons (?). Sur une cellule particulièrement vacuolée, on peut également remarquer un dépôt étalé, ayant l'épaisseur d'une cellule endothéliale et de structure assez homogène, peu dense aux électrons.

En conclusion : réaction immunitaire très probable.

29. OBS. 10 R — Intervention le 17 octobre 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : 15 R. Suites : opacification du greffon. Recul : 2 mois.

30. OBS. 15 R — Intervention le 17 octobre 1968. C.R.O. : surjet irrégulier. Donneur : 10 R. Suites : opacification du greffon. Recul : 2 mois.

31. OBS. 16 R — Intervention le 24 octobre 1968. C.R.O. : nombreux incidents opératoires et anesthésiques. Donneur : mort. Suites : sclérose rétractile du greffon. Pas de vaisseaux visibles. Recul : 5 mois.
Histologie classique : la préparation histologique a été très mauvaise : le greffon est irrégulier, épithélium irrégulier, stroma dissocié avec quelques cellules inflammatoires, des vaisseaux interstitiels. La Descemet du greffon s'enroule au niveau de l'anneau limitant. Il existe une couenne « rétro-greffon », elle-même recouverte par une néo-Descemet sécrétée par les cellules endothéliales, régulières en apparence (*fig. 1*).

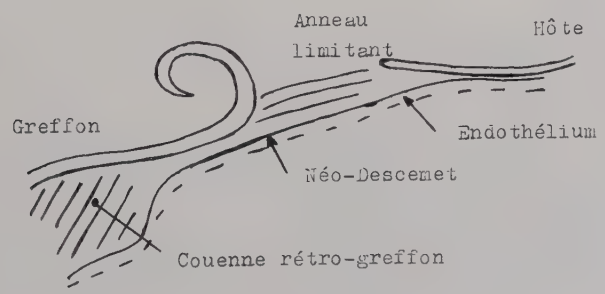


Fig. 1 : Lapin 16 R

A plat : pas de particularités de l'endothélium périphérique. Au niveau de l'anneau limitant et du greffon, le nombre des cellules endothéliales est normal. Cependant, il y est à noter la grande taille des noyaux.

En conclusion : cause mécanique certaine. Maladie du greffon peu vraisemblable.

32. OBS. 21 R — Intervention le 14 novembre 1968. C.R. : sans incident. Suites : gros anneau limitant vascularisé. Opalescence modérée du greffon.
Recul : 1 mois (insuffisant, lapin décédé).

33. OBS. 23 R — Intervention : 14 novembre 1968. C.R.O. : une fuite que colmate un point. Donneur : mort. Suites : greffon superbe..., mais cataracte derrière. Recul : 2 mois (lapin mort).

34. OBS. 24 R — Intervention : 20 novembre 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : mort. Suites : discrète opalescence du greffon ; un pinceau vasculaire atteint le greffon ; quelques petits dépôts très adhérents de la cornée périphérique.

Histologie classique : très mauvaise pièce totalement dissociée.

Etude « à plat » :

— endothélium périphérique très régulier ;
— au niveau de l'anneau limitant qui est très dense : analyse très difficile ;
— au niveau du greffon : particulière irrégularité peut-être plus marquée au centre qu'au pourtour de la greffe. Les noyaux sont grands, cytoplasme étalé, d'autant plus grands, semble-t-il, et plus rares que l'on est au centre de la greffe. Parfois, grande cellule à noyau nucléolé ; quelques mitoses ?

Conclusion : modification marquée de l'endothélium à la face postérieure du greffon. Pas de déhiscence vraie, pas de surcharge endothéliale. Conflit immunitaire possible.

35. OBS. 20 R — Intervention le 27 novembre 1968. C.R.O. : greffon de mauvaise qualité, surjet irrégulier. Donneur : mort. Suites : sclérose rétractile de greffon qui est complètement opacifié ; synéchies. Recul : 5 mois.

36. OBS. 25 R — Intervention le 27 novembre 1968. C.R.O. : surjet d'aspect fragile sur un quadrant. Donneur : 26 R. Suites : opacification avec vascularisation (trois pédicules qui abordent le greffon). Recul : 2 mois 8 jours.

Histologie optique : il s'agit ici vraisemblablement d'une *vraie réaction immunologique*. En effet, il y a un bon affrontement de la

Descemet et une coulée conjonctive rétro-descemétique reste limitée à la région de l'anneau. Vascularisation superficielle du greffon avec cellules inflammatoires peu nombreuses, mais semblant à *prédominance de lymphocytes*. Pas d'épithélium, ni endothélium, ni limbe (artéfact).

Conclusion : réaction immunitaire très probable, car absence de cause mécanique d'échec du greffon et infiltration du stroma par des cellules et des vaisseaux. Mécanisme initial impossible à préciser car endothélium absent.

37. OBS. 26 R — Intervention le 27 novembre 1968. C.R.O. : une fuite que colmate un point supplémentaire. Suites : opacification du greffon. Recul : 2 mois 8 jours.

Histologie optique : greffon très œdémateux, d'épaisseur double de la normale. Epithélium atrophique, avec œdème épithélial probable. Vascularisation interstitielle de la cornée et du greffon avec manchons (peu importants) de cellules inflammatoires. Membrane rétro-descemétique épaisse, très riche en fibroblastes, sans endothélium. Cette membrane est en continuité avec les lames postérieures de la cornée-hôte et semble en rapport avec une lacune importante de la Descemet de l'hôte (rétraction à la section). Ici, l'origine de l'opacification semble mécanique : l'affrontement insuffisant de la Descemet a entraîné une croissance conjonctive rétro-descemétique, d'où destruction de l'endothélium, œdème du greffon et vascularisation.

Conclusion : pas de maladie immunitaire, mais cause mécanique.

38. OBS. 27 R — Intervention le 4 décembre 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : 28 R. Suites : beau greffon. Recul : 2 mois 1/2.

39. OBS. 28 R — Intervention le 4 décembre 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : 27 R. Suites : greffon impeccable. Recul : 2 mois.

Histologie classique : il s'agit effectivement d'une bonne greffe puisqu'on ne retrouve aucune différence entre le greffon et la cornée en ce qui concerne l'épaisseur, la structure lamellaire régulière du stroma, sa richesse en cellules, la Descemet bien rectiligne et l'endothélium présent.

L'anneau limitant est marqué par un crochet descemétiques double, une richesse plus grande en fibroblastes. La continuité des lames est partiellement reconstituée.

Coupe semi-fine : excellent aspect normal dans toutes les zones (*planche I*).

40. OBS. 30 R — Intervention le 4 décembre 1968. C.R.O. : un point supplémentaire sur une « micro-fuite ». Donneur inconnu. Suites : vascularisation et membrane rétro-cornéenne. Recul : 2 mois.

Histologie classique : greffon épais en forme de lentille. Une coulée de conjonctif cicatriciel recouvre la face antérieure du greffon, sous l'épithélium. On trouve vascularisation et infiltration cellulaire autour du greffon et en avant de lui. Importante membrane conjonctive rétro-descemétique ; la Descemet enfouie fait de grands plis sur les bords du greffon. Ebauche probable d'une néo-Descemet sous un endothélium très mince.

Conclusion : prédominance des phénomènes mécaniques. Membrane rétro-cornéenne importante, et même sous-épithéliale séquestrant le greffon.

41. OBS. 34 R — Intervention le 11 décembre 1968. C.R.O.: sans incident. Donneur : 35 R. Suites : aspect très évocateur de maladie du greffon : opalescence de la greffe, plis de la Descemet, quelques petits précipités en périphérie, dystrophie bulleuse épithéliale. Recul : 9 mois. Ce lapin vit encore actuellement (octobre 1969) pour étude ultérieure de l'évolution éloignée.

42. OBS. 35 R — Intervention le 11 décembre 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : 34 R. Suites : greffon opaque, pas de vaisseaux visibles. Recul : 4 mois.

Histologie sur coupe « à plat » : grande différence entre la périphérie (hôte) et le greffon : frappante régularité de l'endothélium du receveur et disposition anarchique des cellules au niveau du greffon. Au niveau de l'anneau limitant, nombre relativement régulier des cellules endothéliales, mais répartition inégale. Au niveau du greffon : dimensions plus larges des noyaux, rareté relative des cellules endothéliales.

Conclusion : le seul fait qu'on puisse préciser est l'anomalie endothéliale.

43. OBS. 36 R — Intervention le 12 décembre 1968. C.R.O. : mauvais surjet dans un secteur. Donneur : 57 R. Suites : mal connues, appel vasculaire avec œdème, datage perdu, recul non précisable.

44. OBS. 37 R — Intervention le 12 décembre 1968. C.R.O. : surjet irrégulier en deux endroits (rupture du fil). Donneur : 36 R. Suites : aspect de maladie du greffon avec précipités. Recul : 6 semaines.

Histologie classique : aspect absolument superposable au 25 R, sinon que l'infiltrat à lymphocytes est peut-être plus important.

Conclusion : maladie immunitaire probable.

45. OBS. 38 R — Intervention le 14 décembre 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : 39 R. Suites : greffon clair, un amas vasculaire à 12 h probablement sur un fil restant. Recul : 4 mois.

46. OBS. 39 R — Intervention le 14 décembre 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : 38 R. Suites : greffon très clair ; deux petites synéchies irido-cornéennes très fines. Recul : 4 mois 1/2.

Histologie classique : coupe très mal « techniquée » (les plans postérieurs sont détachés du plan antérieur). Le greffon est situé par l'irrégularité épithéliale, l'augmentation de l'épaisseur et la rupture descemétique. Au niveau de l'hôte, il y a un aspect de double Descemet. La face postérieure du greffon est régulière, avec Descemet mince et endothélium apparemment normal. Les lamelles y sont très régulières. Il n'y a pas d'envahissement vasculaire, ni d'invasion inflammatoire.

Conclusion : normal.

47. OBS. 40 R — Intervention le 18 décembre 1968. C.R.O. : greffon d'aspect médiocre. Donneur : mort. Suites : clair, mais important anneau limitant. Recul : 4 mois.

Histologie classique : anneau limitant peu épais. Epithélium irrégulier. Quelques vaisseaux dans le stroma antérieur, quelques petits îlots d'infiltrats inflammatoires. La membrane de Descemet est en spirale à ses extrémités, ondulée ailleurs. Sur le quart environ du greffon (*fig. 2*), membrane rétro-descemétique épaisse, derrière

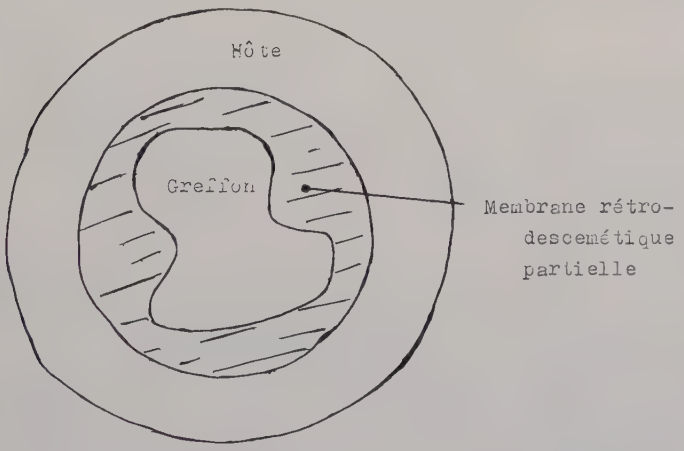


Fig. 2 : Aspect du greffon du lapin 40 R, avec sa membrane rétro-descemétique partielle, en périphérie

laquelle les cellules endothéliales sont parfaitement disposées, peut-être seulement d'une manière plus lâche. Endothélium continu, à noyaux régulièrement espacés, sauf au niveau de quelques synéchies, trahies par quelques amas de pigments. Aucune surcharge cellulaire de l'endothélium. Humeur aqueuse d'aspect très albumineux.

Conclusion : quelques anomalies mécaniques. Apparemment, pas de réactions inflammatoires postérieures. Simplement dans le stroma antérieur, quelques bras vasculaires avec manchon cellulaire.

48. OBS. 42 R — Intervention le 19 décembre 1968. C.R.O. : surjet médiocre. Donneur : 43 R. Suites : clair. Recul : 4 mois.

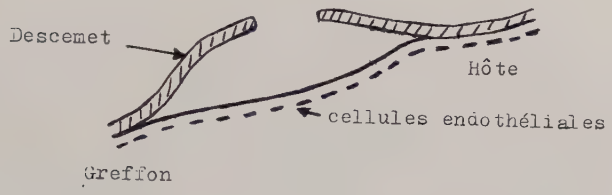
49. OBS. 43 R — Intervention le 19 décembre 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : 42 R. Suites : clair. Recul : 4 mois.

50. OBS. 44 R — Intervention le 20 décembre 1968. C.R.O. : sans incident. Donneur : mort. Lapin sacrifié au 16e jour pour étude.

Histologie classique : le greffon est régulier. L'épithélium subit des variations d'épaisseur, les kératocytes paraissent normaux, peut-être un peu plus nombreux qu'habituellement. La Descemet et l'endothélium sont normaux, sinon peut-être que le nombre des cellules endothéliales est moins grand qu'habituellement. (noyaux plus étalés). L'anneau limitant est net (cf. *fig. 3*); les fils y sont encore (1), avec petite réaction cellulaire à corps étranger ; le trajet de la réparation fibroblastique est net ; les sections descemétiques sont franches (2), saillie en arrière d'un bourrelet fibroblastique d'union entre greffon et hôte (3). Par-dessus le bourrelet, il existe un endo-

Fig. 3 : Lapin 44 R

thélium continu. Sur le greffon, nombre moins grand de cellules endothéliales. Pas de surcharge cellulaire. A noter dans les boyaux cicatriciels, une substance très éosinophile, granuleuse (mucoprotéines ?).



51. OBS. 49 R — Intervention le 2 janvier 1969. C.R.O. : sans incident. Donneur : 50 R. Suites : greffon opalescent, plis descemétiques, un fil restrant, qu'aborde un pinceau vasculaire. Recul : 8 mois.

52. OBS. 50 R — Intervention le 2 janvier 1969. C.R.O. : sans incident. Suites : greffon très clair. Recul : 3 mois.

53. OBS. 53 R — Intervention le 4 janvier 1969. C.R.O. : sans incident. Donneur : 54 R. Suites : clair. Recul : 4 mois.

54. OBS. 54 R — Intervention le 6 janvier 1969. C.R.O. : sans incident. Donneur : 53 R. Suites : clair. Recul : 2 mois.

Microscopie électronique :

— il existe les traces d'une synéchie irienne ;
— l'endothélium est continu, très régulier, d'épaisseur normale ;
— le stroma est caractérisé, au niveau de l'anneau limitant, par un certain désordre fibrillaire et de fins dépôts interstitiels entre les faisceaux. Au niveau du greffon, il est normal, avec des kératocytes normaux (*planche I*).

55. OBS. 58 R — Intervention le 8 janvier 1969. C.R.O. : surjet insuffisant, qu'on est obligé de compléter par des points séparés. Donneur : 59 R. Suites : opacification du greffon. Recul : 3 mois.

56. OBS. 59 R — Intervention le 8 janvier 1969. C.R.O. : rupture, puis réparation du surjet. Donneur : 58 R. Suites : opacification du greffon avec sclérose rétractile centrale. Recul : 3 mois 1/2.

Histologie classique : le greffon paraît paradoxalement très régulier. Les lamelles postérieures sont dissociées. L'épithélium est

régulier. Quelques petites cellules rondes dans le greffon ; kératocytes en nombre régulier. La transition de l'hôte au greffon pardessus les ruptures descemétiques est remarquablement plate. L'endothélium est, à la place postérieure du greffon, mal conservé (surcharge ?).

Conclusion : histologie paradoxalement bonne (erreur technique ?).

57. OBS. 82 R — Intervention le 4 février 1969. C.R.O. : une fuite où s'accole une synéchie irienne. Repose d'un point et nouvelle injection d'air pour repousser l'iris. Donneur : mort. Suites : sclérose rétractile du greffon ; pas de vaisseaux visibles. Recul : 3 mois.

Histologie classique sur préparation à plat : pas de particularité de l'endothélium périphérique. Au centre du greffon, les cellules sont larges, avec noyaux très clairs, volumineux. La plupart du temps, l'endothélium est recouvrant, mais il y a quelques zones qui semblent mal recouvertes (taches pâles, sans noyaux) ; ces plages paraissent cependant parfois occupées par des débris de noyaux. Plus on se rapproche de l'anneau limitant, plus la taille des cellules et du cytoplasme diminue, plus grand est le nombre des cellules.

Conclusion : il y a un problème postérieur évident, de déficience endothéliale.

58. OBS. 63 R — Intervention le 5 mars 1969. C.R.O. : sans incident. Donneur : mort. Suites : clair. Recul : actuellement 6 mois, vit toujours (octobre 1969) pour examen éloigné.

59. OBS. 66 R — Intervention le 5 mars 1969. C.R.O. : sans incident. Donneur : mort. Suites : clair. Recul : 2 mois.

60. OBS. 68 R — Intervention le 6 mars 1969. C.R.O. : sans incident. Donneur : mort. Suites : clair, mais anneau limitant marqué. Recul : 2 mois.

Histologie classique : pièce très difficile à juger, car très délabrée. Seules, les lames antérieures du greffon prêtent à commentaires : particulièrement régulières, avec cellules en nombre normal.

61. OBS. 69 R — Intervention le 13 mars 1969. C.R.O. : sans incident. Donneur : mort. Suites : greffon superbe, mais cataracte traumatique. Recul : 6 mois.

CHAPITRE IV

INTERPRETATION DES ASPECTS CLINIQUES EVOLUTIFS

L'ensemble des résultats est consigné sur le *Tableau I* (p. 45).

A. — Les greffons clairs

1° *Ils sont au nombre de* 29, *soit* 47,5 %.

On peut y distinguer, de façon assez arbitraire, deux aspects voisins :

a) Dans un *premier groupe,* nous avons, outre un greffon parfaitement transparent sans plis descemétiques ni précipité rétrocornéen, une chambre antérieure profonde, pas de synéchie antérieure ni de vaisseau cornéen visible, et enfin un anneau limitant peu marqué.

Il y a 22 cas qui entrent dans cette description, ce qui correspond à 36,1 % de l'ensemble des greffes pratiquées et à 75,9 % des greffes claires.

Il faut noter que, dans ces circonstances favorables, il était tout à fait facile d'examiner le fond d'œil du lapin et éventuellement d'en faire la photographie.

b) Dans le *deuxième groupe,* l'aspect terminal de la greffe ne différait du précédent que par la présence d'un anneau limitant

plus accusé, avec persistance de quelques fins vaisseaux allant du limbe à la périphérie du greffon. Dans ce cadre (où le F.O. est également possible), nous avons rangé 7 greffes, soit 11,4 % de toutes celles que nous avons pratiquées et 24,1 % de greffons clairs.

2° *L'évolution* de la greffe dans ces cas où le résultat final était bon, était superposable à celle que nous avions observée dans un travail précédent concernant les *autogreffes*.

Le lendemain de l'intervention, alors que le greffon est en place, que la chambre antérieure est bien formée, qu'il n'existe aucune synéchie antérieure, on voit apparaître un discret œdème de la cornée réceptrice.

Cet œdème augmente les jours suivants, allant du faible trouble de la transparence cornéenne au gonflement opalescent qui gêne l'examen de la chambre antérieure. Au centre, le greffon reste clair, tranchant sur le reste de la cornée, puis il devient à son tour plus ou moins œdémateux vers la fin de la première semaine.

Mais souvent, dès le troisième jour, apparaît une couronne vasculaire péri-limbique de densité variable. De cette couronne vasculaire partent de fins vaisseaux superficiels qui, vers le huitième jour, atteindront les limites de la zone de trépanation pour y former un réseau vasculaire qui entoure le greffon.

En réalité, sur ces cornées à l'évolution favorable, l'importance de l'œdème et de la vascularisation semble essentiellement liée à la qualité du surjet, selon notamment qu'il est trop serré, « enrou-

---

Légende du tableau ci-contre :

N.B. — Les numéros ne se suivent pas, car les marqueurs servaient à plusieurs équipes de recherche. Le marquage s'est fait avec deux séries d'étiquettes : la première grise (G), la deuxième rouge (R).

Divers :

1) Le lapin 38 avait sur le greffon un nodule vasculaire véritablement angiomateux. Origine ? un fil restant qu'on n'a pas vu ?

2) Le lapin 44 a été volontairement sacrifié au seizième jour pour étude.

Le total est de *61 lapins*. Il y a eu une vingtaine d'accidents d'anesthésie et de mort dans les quinze jours post-opératoires. On peut dire qu'*on perd un lapin sur trois*. Nous avons donc opéré une *centaine* de lapins.

Les numéros *soulignés* correspondent aux lapins dont les cornées ont été étudiées en histologie classique ou électronique.

Les lapins joints par un trait sont ceux dont les cornées ont été « croisées ».

TABLEAU I

	CLAIRS		INFECTION	GREFFONS OPAQUES				DIVERS	FAUTE TECHNIQUE	
	Parfaits	Anneau limitant		Opalescence		Oedème + Vaisseaux	Membrane rétro-cornéenne	Nécrose		Mineure	Majeure
				seule	avec précipités						
SERIE "GRISE" (G.)	52 54	58 59				60		50			55
		67 68									
	72		73								
	74		75								
								76		(76)	(75) ouvert. cristalloïde
	77										(77)
		79									
	83										84
	86										
		88									
					90		91			(90) (91)	
	95					96		97		(97)	
SERIE "ROUGE" (R.)						11	2				(11)
				6 10 15				16			(16)
				21							
	23										(23) cat. trauma.
				24				20			
				26		25					
	27 28										
							30			(30)	
					34 35						
						(36)					suites mal connues
					37						
	38 39 40 42 43								38(1) 44(2)		
	50 53 54		49								
				58				59 82			
	63 66										
	69	68									(69) cat. trauma.

lant » les bords de la plaie cornéenne au lieu de bien les affronter, ou que les berges de la trépanation ont été abîmées, mâchurées, nécessitant éventuellement en fin d'intervention un ou deux points de plus pour colmater une fuite.

C'est ce point qui détermine la qualité de la greffe et la différence de ces deux groupes que nous avons décrits.

Dans le premier, l'œdème cornéen a disparu dès le dixième jour, alors qu'il va persister au niveau du greffon jusqu'aux environs du quinzième jour. La couronne vasculaire juxta-limbique reste peu importante et n'existe plus à la fin de la première semaine ; les rares vaisseaux qui en partent n'atteignent pas le greffon et ne sont plus macroscopiquement visibles au bout d'un délai maximum d'un mois. Le surjet s'élimine entre le quinzième et le vingt et unième jour.

Dans le deuxième groupe, l'œdème cornéen, franc au lendemain de l'opération, va persister au-delà du quinzième jour. L'appel vasculaire est précoce, important et forme autour du greffon un réseau vasculaire dont quelques ramifications envahissent les bords. Ces vaisseaux ne disparaissent que lentement, en six semaines environ, et parfois, il persistera plus longtemps encore, deux ou trois rameaux atteignant le bord du greffon. C'est là que, si le surjet est en cause, il conviendra de l'enlever au cours de la troisième ou quatrième semaine. Finalement — on l'a vu — la différence portera essentiellement sur un anneau limitant plus marqué et plus dense, mais la greffe sera claire.

B. — Les greffons opaques

1° *Ils sont au nombre de* 27, *soit* 44,3 % *de la totalité des greffes effectuées.*

On peut y distinguer (*Tableau II*) :

— *Des greffons opalescents :* 12 dont 4 présentaient à la face postérieure, en périphérie, de très petits précipités blancs, parfois brillants, et étaient abordés par une vascularisation modeste.
— Des greffons *franchement œdémateux et vascularisés :* 5.
— Trois cas de membrane rétro-cornéenne.

— Et 7 de « rejet » majeur, puisque le greffon se « sclérosait » et se rétractait presque totalement jusqu'à ne représenter, au bout de quatre à six semaines, qu'une taie centrale jaunâtre, irrégulière, chagrinée, et abordée par plusieurs vaisseaux (un aspect clinique analogue a été décrit dans le rapport S.F.O. 1948 sur les kératoplasties. Les auteurs avaient appelé cet aspect « nécrose lente aseptique du greffon »).

TABLEAU II

	Nombre	% de la totalité des greffes	% des opacifications
Greffons opaques	27	44,3	100
- opalescence simple	12	19,7	44,4
- (dont, avec "précipités")	(4)	(6,6)	(14,8)
- oedème massif avec vascularisation majeure	5	8,2	18,5
- membrane rétro-cornéenne	3	4,9	11,1
- nécrose avec rétraction	7	11,5	26

2° L'évolution de ces greffes destinées à être opaques est plus difficile à schématiser que celles des cas favorables.

a) En général, il n'a pas semblé y avoir, dans le déroulement post-opératoire, d'intervalle libre au cours duquel le greffon était clair.

Tout se passe comme si, au dixième-quinzième jour, période où le greffon est — comme on l'a vu — presque toujours œdémateux, commençait à se dessiner la séparation entre les évolutions favorables que nous avons précédemment envisagées et l'opacification ou les complications s'aggravant dès lors progressivement.

Ainsi l'évolution défavorable se fait-elle, presque toujours, d'un seul tenant. Presque, mais non pas toujours, car nous avons une observation privilégiée d'un lapin, le numéro 6 R où l'on note « greffon magnifique » au trentième jour ; puis « greffon opalescent,

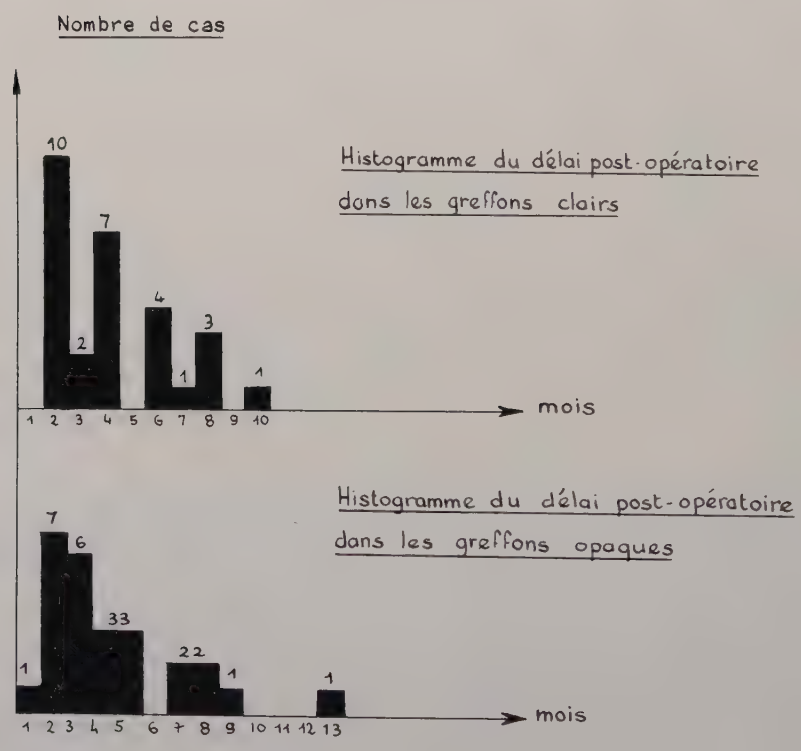
augmentation franche de l'épaisseur à son niveau... », *au cinquantième jour*. Ce fut en réalité la seule expérience qui reproduisît une séquence qui est si souvent observée en pathologie humaine.

b) *Le délai* après lequel il nous a semblé que l'on pouvait juger définitivement de la greffe expérimentale transfixiante chez le lapin est de *huit à dix semaines*.

Nous avons eu des surprises très tardives.

Dans les deux histogrammes ci-dessous, nous montrons que le délai post-opératoire obtenu dans les greffons clairs et dans ceux opacifiés sont homogènes. L'influence de la durée de l'observation post-opératoire doit donc être faible dans notre série.

TABLEAU III



c) C'est à propos également de ces opacifications qu'il convient de discuter le rôle des *fautes techniques plus ou moins méconnues,* car les chiffres le suggèrent fortement :

TABLEAU IV

		% Fautes techniques
Totalité des greffes : 61		
Greffes avec fautes techniques : 12		
Dont :		
10 compatibles avec étude valables 2 rédhibitoires		16,4 | 19,7 % 3,3 |
Greffons clairs :	21	13,7 %
Fautes techniques :	4	
Greffons opaques :	27	22,2 %
Fautes techniques :	6	
— opalescence seule	0	0 %
— avec précipités	1 sur 4	25 %
— œdème/vaisseaux	1 sur 5	20 %
— membrane R.C.	1 sur 3	33 %
— sclérose	3 sur 7	43 %

Il est donc bien apparent qu'un certain nombre d'opacifications secondaires ou tardives du greffon relève de causes mécaniques.

Néanmoins, il faut souligner deux points :

— d'une part, des fautes techniques majeures qui nous ont semblé devoir compromettre toute possibilité de greffe correcte, n'ont en réalité pas empêché une évolution satisfaisante. Un exemple frappant en est le lapin n° 77 G ;

— d'autre part, en autogreffe, nous n'avions eu qu'un déchet de 6 %, par cause probablement mécanique ; comme le pourcentage de membrane rétro-cornéenne est modéré, la technique de la greffe est donc satisfaisante sur le plan de la technique opératoire. En somme, des causes mécaniques peuvent aggraver les conditions locales. Du reste, il est logique de penser que plus la cicatrisation est stimulée avec apport vasculaire, plus les conditions d'exagération de la réponse immunitaire sont réalisées.

C. — Les complications

Elles sont en nombre limité :

— 2 cas d'infection sur greffe, soit 3,3 % ;
— 2 cas de synéchies antérieures massives, soit 3,3 % ;
— quant au lapin 44 R, il n'a également pas été rangé dans les rubriques précédentes, car il a été sacrifié pour étude au seizième jour.

D. — Lapins croisés survivants

Un dernier point intéressant est représenté par l'analyse des lapins croisés survivants. En effet, 28 lapins sont groupés en 14 paires « croisées », c'est-à-dire dont les greffons ont été échangés. Deux paires de lapins sont ininterprétables car chacune comporte un cas d'infection : lapins 73 (croisé au 72) et 75 (au 74). Il reste donc 12 paires de lapins qu'on peut étudier sous l'angle du « croisement » (cf. *Tableau I*) :

— parmi les *greffons clairs,* 4 paires (67-68 R ; 38-39 R ; 42-43 R ; 53-54 R) sont homogènes, c'est-à-dire que les 2 lapins croisés de chacune d'elles ont eu des greffons clairs. Il y a 2 paires discordantes : 59-60 G et 49-50 R (59 G et 50 R sont clairs, 60 G et 49 R sont opaques). Ils n'ont malheureusement pas été étudiés en histologie ; bien que ceci soit pure hypothèse, rien n'interdit de penser qu'une raison mécanique fut à l'origine de cette discordance ;
— parmi les *greffons opaques,* nous avons 6 paires (90-91 G ; 10-15 R ; 25-26 R ; 34-35 R ; 36-37 R ; 58-59 R). Le groupe est homogène si, à dire vrai, on omet l'histologie bizarrement normale du 59 R (voir plus haut).

Dans l'ensemble donc, les lapins croisés sont restés clairs ensemble ou se sont opacifiés ensemble. Ceci souligne fortement la cause très probablement immunitaire de ces rejets du greffon chez le lapin — animal pourtant réputé « immunologiquement peu compétent ».

CHAPITRE V

INTERPRETATION DES RESULTATS HISTOLOGIQUES

A. — Rappel de la constitution normale de la cornée de lapin

(d'après L.B. Sheppard)

a) Les DIMENSIONS CORNÉENNES varient :

— de 11,5 à 14 mm pour le diamètre vertical ;
— de 12,5 à 16 mm pour le diamètre horizontal ;
— de 0,3 à 0,4 mm d'épaisseur à la périphérie, très légèrement moins au centre.

Sa courbure est la même que celle du reste du globe avec lequel elle se continue insensiblement.

b) L'ÉPITHÉLIUM CORNÉEN comporte quatre à six rangées de cellules. La couche profonde est faite de cellules cylindriques et repose sur une fine membrane basale la séparant du stroma. Il n'y a pas de Bowman individualisée.

c) LE STROMA CORNÉEN est fait de lamelles de collagène courant parallèlement à la surface de la cornée. Les kératocytes aplatis s'interposent entre les lamelles. Des espaces interlamellaires sont visibles : peut-être y existe-t-il une circulation liquidienne ?

La cornée est largement innervée par des rameaux venus des nerfs ciliaires. Ces rameaux passent à travers le limbe de la sclère au stroma cornéen, où ils se ramifient à la fois dans l'épithélium et l'endothélium.

d) La face interne du stroma est délimitée par une MEMBRANE DE DESCEMET épaisse, et une simple assise de cellules aplaties, polyédriques constitue *l'endothélium*.

e) La jonction cornéo-sclérale apparaît sur une coupe médiane et sagittale comme une ligne diagonale, prenant son origine en dehors du limbe et s'enfonçant en arrière parallèlement à l'axe antéro-postérieur du globe.

B. — Les techniques histologiques utilisées dans ce travail

(*Docteur J.-P. Faure et collaborateurs*)

D'une façon générale, les pièces sont fixées au glutaraldéhyde éventuellement associé à l'acroléine (fixateur plus diffusible), puis coupé en deux ; la première moitié est préparée pour l'inclusion en paraffine, coloration par l'hématine-éosine-safran en vue de l'histologie classique ; dans l'autre moitié du prélèvement, on découpe des petits fragments (du greffon, de l'anneau limitant, de la cornée périphérique). Ces petites pièces sont post-fixées par l'acide osmique à 1 % tamponné, puis déshydratées aux alcools et incluses en araldite. Des coupes « semi-fines » sont confectionnées, colorées au bleu de toluidine, examinées au microscope optique. Cette technique permet une observation cytologique plus fine que la méthode habituelle.

Pour la microscopie électronique, des coupes ultra-fines sont successivement colorées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb, et examinées au microscope électronique Siemens-Elniskop ou Philips EM 300.

Enfin pour l'étude de l'endothélium sur préparation à plat, nous préférons la fixation au liquide de Carnoy pendant vingt-quatre

heures, puis coloration à l'hématoxiline et isolement de la membrane de Descemet et de l'endothélium sous contrôle microscopique (Docteur Kim).

C. — Résultats de notre étude expérimentale

a) Y a-t-il correspondance entre l'aspect clinique et les données de l'examen histologique ?

Le *Tableau V* (page suivante) qui concerne les 15 lapins étudiés à la lumière du microscope, montre qu'il y a 4 cas (27 %) « non concordants ». En réalité, 2 de ces cas sont en grande partie concordants et ils concernant les greffons clairs. Les 2 cas restants concernent les greffons opaques : on retrouve ici la cause mécanique venant — comme on le prévoyait — interférer avec les causes immunitaires d'opacification.

En bref, on peut estimer la concordance à près de 90 % (2 cas sur 15 réellement non concordants, soit 13 %).

b) Quel est l'aspect typique de l'homogreffe transparente ?

1° *Histologie classique :*

La cornée réceptrice est calme, tout au plus une petite réaction au limbe.

L'anneau limitant est — comme nous le reverrons — régulier, peu important, affrontant bien receveur et greffon.

Il y a continuité des plans épithéliaux et des lames du stroma. La réparation descemétique est continue avec revêtement endothélial.

Il y a une certaine tolérance pour une membrane rétro-cornéenne mince ou partielle, mais toujours recouverte d'une lamelle descemétique très fine ou normale et d'un endothélium continu aux cellules pratiquement normales. Egalement parfois tolérance pour un petit tronc vasculaire dans le stroma antérieur de la greffe, avec deux ou trois cellules inflammatoires.

TABLEAU V

GREFFONS CLAIRS		GREFFONS OPAQUES			
		sans cause apparente (immunitaire ?)		cause mécanique reconnue	
C.	N.C.	C.	N.C.	C.	N.C.
95 G					
		6 R			
		16 R			
		24 R			
		25 R			
			26 R (cause mécanique : non affrontement des bords)		
28 R				30 R (M.R.C.)	
		35 R			
		37 R			
38 R					
Cas intermédiaires	40 R (M.R.C. partielle, par ailleurs greffon clair)				
	54 R (synéchie mais greffon clair)				
			59 R (sclérose centrale et pourtant histol. nle ?)		
		82 R			

Abréviations : C. = correspondance
N.C. = non-correspondance
M.R.C. = membrane rétro-cornéenne

2° *Microscopie électronique :*

Stroma strictement normal, fibrilles régulières, régulièrement disposées, de diamètre égal.

Deux variétés de kératocytes :

— les plus nombreux avec des signes d'activité métabolique généralement plus grands que normalement (réticulum endoplasmique développé) ;

— et certaines cellules nécrotiques : kératocytes lysés ?

L'endothélium est d'aspect normal, sur une Descemet régulière.

c) Quelles sont les altérations histologiques du greffon opaque ?

1° Le fait dominant est une *altération des plans postérieurs à partir de l'anneau limitant :*

Il y a formation d'une couenne rétro-descemétique fibreuse extrêmement importante. Cette couenne est parfois mêlée à quelques cellules pigmentées d'origine irienne probable. Elle est parfois recouverte d'une néo-Descemet, recouverte elle-même de cellules endothéliales. Elle peut aussi paraître dépourvue de revêtement cellulaire, mais n'est-ce pas le fait d'un artéfact ? En effet, lorsqu'on étudie le lapin n° 44 R au seizième jour, on peut constater que la membrane rétro-descemétique existe déjà et qu'elle est recouverte d'un endothélium continu totalement recouvrant.

L'examen de quelques cornées à plat nous a permis d'entrevoir sur ces formations cicatricielles rétro-cornéennes les cellules endothéliales :

— autour du greffon, elles ont, en général, une disposition et une morphologie normales ;

— au niveau de l'anneau limitant, leur organisation est moins régulière (aspect dispersé) et leur morphologie différente (presque fusiforme) ;

— à la face postérieure du greffon, les cellules sont moins nombreuses, plus grandes et de formes irrégulières. Certaines d'entre elles frappent par la taille de leur cytoplasme.

Sur deux « coupes à plat », il semble même qu'en certains endroits des cellules endothéliales manquent. Quelques débris cellulaires peuvent être reconnus parmi des cellules vastes et peu nombreuses.

Il ne nous a pas été donné de préciser, sur les coupes histologiques frontales ou à plat, l'existence de dépôts sur l'endothélium, dépôts cliniquement rares et peu caractéristiques chez le lapin.

L'humeur aqueuse ne nous est jamais apparue comme particulièrement riche en cellules inflammatoires.

Quelques éléments antérieurs caractérisent également des échecs : irrégularité de l'épithélium, parfois prolifération cicatricielle antérieure sous-épithéliale très rare, pénétration vasculaire profonde (5 fois) avec manchon inflammatoire.

2° *En microscopie électronique :*

On a pu préciser un certain nombre de détails relatifs essentiellement aux éléments cellulaires du stroma et de l'endothélium.

La zone caractéristique de l'anneau limitant est occupée par une forte activité fibroblastique : des fibroblastes nombreux, à cytoplasme vaste, possédant un réticulum endoplasmique très développé ont une activité fibrillogénétique importante. Des microfibrilles peuvent être retrouvées au milieu des fibrilles de collagène matures et désordonnées.

Certaines des cellules conjonctives, surtout dans le stroma antérieur, montrent des signes de dégénérescence cytoplasmique : vacuolisation, cytoplasme et noyaux clairs. A leur contact, on peut noter des cellules de la série mono-histiocytaire évoquant la possibilité du début d'un phénomène de phagocytose. On peut noter également, sur une forme achevée (lapin 6 R), des macrophages et quelques plasmocytes.

Dans le stroma antérieur, au voisinage de l'anneau limitant, dans le greffon, une prolifération active de capillaires et de fibres nerveuses myéliniques et amyéliniques.

Plus profondément, on a pu noter des altérations importantes de l'endothélium : si parfois les cellules endothéliales sont tout à fait normales, ailleurs, une certaine discontinuité semble inté-

resser cette membrane : les espaces intercellulaires sont vastes, dépourvus de liaisons et sont occupés éventuellement, au contact de la Descemet, par un dépôt dense aux électrons ; ailleurs encore, le cytoplasme endothélial est vacuolé et nous avons pu noter une seule fois, sur une cellule endothéliale, un dépôt apparemment homogène d'analyse difficile.

* *

Cette étude histologique nous permet de confirmer que *lorsqu'un greffon est transparent* cliniquement, il le doit à la régularité de ses structures, qu'elles soient épithéliales, stromales ou endothélio-descemétiques.

L'anneau limitant prend une importance particulière dans le déterminisme de ces structures quasi normales. Il est peu épais, il n'existe pas de décalage postérieur ; le raccord fibreux entre les deux fragments de Descemet interrompue est bref, peu exubérant ; l'endothélium recouvre l'ensemble d'une manière homogène.

Une certaine prolifération fibroblastique postérieure, même saillante, demeure compatible avec une bonne transparence, dès l'instant où elle reste limitée à la périphérie du greffon, de même qu'un tronc vasculaire isolé peut persister dans le stroma sans dommage réel pour le greffon.

L'analyse des causes de *l'opacification* du greffon permet au contraire d'insister sur l'importance de la *réaction cicatricielle* qui prend son départ au niveau de l'anneau limitant. En effet, sur 15 examens histologiques, dont 10 pratiqués sur greffe opaque, nous avons vu que 4 fois, une véritable membrane rétro-cornéenne, atteignant parfois le tiers de l'épaisseur de la greffe, recouvre celle-ci en arrière de sa Descemet.

Cette seule raison peut déjà, à elle seule, expliquer une certaine part de l'opacité du greffon. En outre, à la face postérieure de cette couenne fibreuse, l'endothélium apparaît de densité cellulaire variable, normal en périphérie du greffon, désordonné au niveau de l'anneau limitant, il devient plus mince, moins riche en cellules et parfois déhiscent vers le centre. L'absence de cette bar-

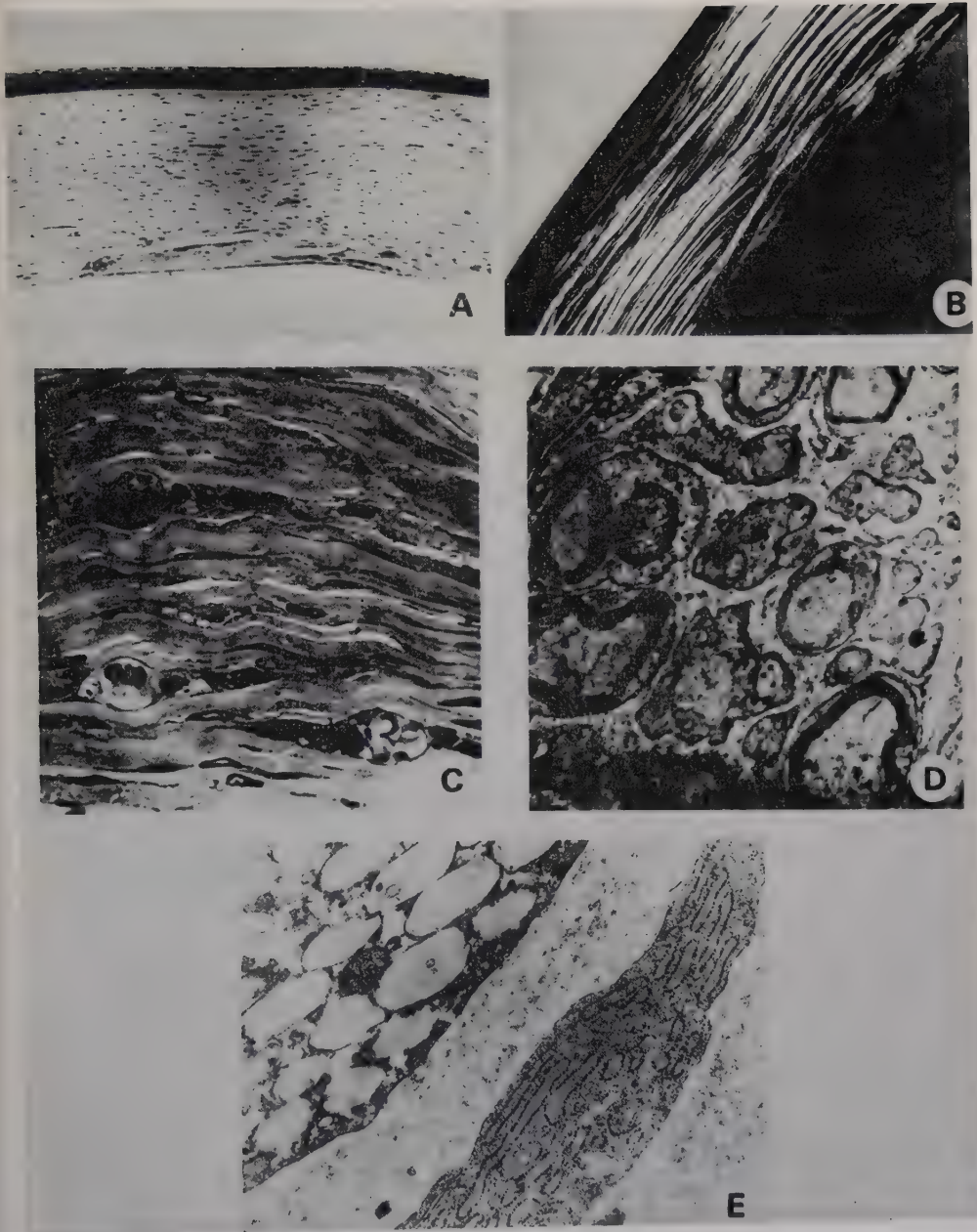
rière physiologique peut expliquer, au moins pendant un temps, l'hydratation anormalement élevée du greffon et les altérations du tissu conjonctif qui s'y développe.

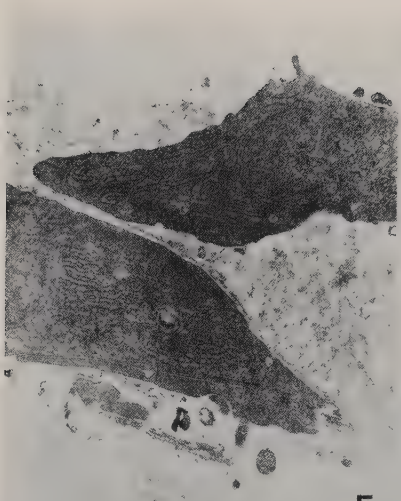
Le deuxième élément susceptible d'expliquer l'opacification fait appel à des *réactions immunitaires*. Son déroulement clinique est moins précis qu'en pathologie humaine : il est du reste classique de dire que le lapin est bien moins « immunologiquement compétent » que l'homme. En particulier, la présence de précipités sur l'endothélium dans les premières semaines de la greffe est difficile à observer.

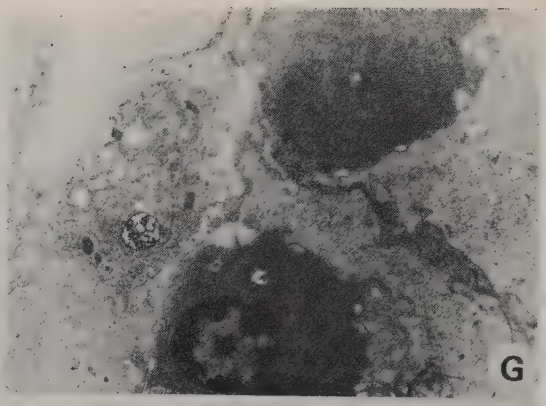
Il semble que l'opacité passe par une phase œdémateuse continue (qui gêne précisément l'observation de l'endothélium) qui se prolonge par une infiltration vasculaire progressive du greffon, le terme en étant une relative opacité sur un greffon plus ou moins vascularisé.

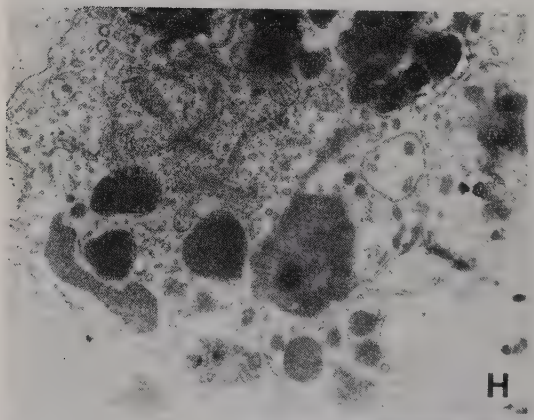
L'analyse histologique nous rend compte des phénomènes inflammatoires immunitaires du stroma (infiltration vasculaire à partir de l'anneau limitant, affectant surtout le stroma antérieur, avec des éléments inflammatoires disséminés à leur pourtour). Par contre, l'observation histologique de l'endothélium ne nous permet pas de mettre en évidence des éléments différents de ceux que nous observons dans les modifications purement cicatricielles des plans postérieurs.

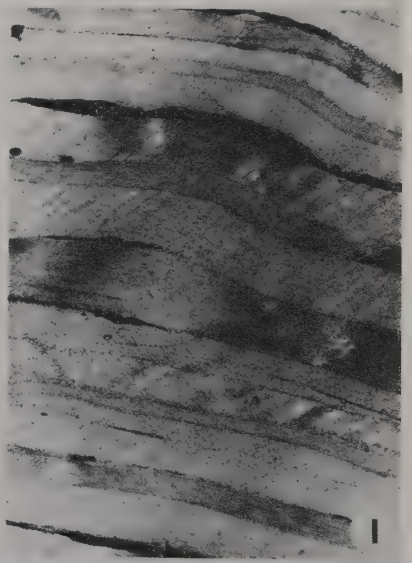
La microscopie électronique peut, par contre, peut-être rendre compte d'altérations plus précises de cet endothélium. Sans avoir l'ambition, à partir d'une seule observation ultra-structurale, de définir une règle, on peut, dans un cas (lapin n° 6 R) de maladie du greffon portant précisément des stigmates biomicroscopiques d'altération de l'endothélium (plis descemétiques d'apparition *secondaire*), constater des altérations de cette membrane : dissociation des ponts intercellulaires, vacuolisation de l'endothélium et surcharge par un dépôt de nature difficilement identifiable (apparemment non cellulaire). Peut-être s'agit-il là d'un mécanisme cytotoxique endothélial rejoignant celui qu'on suppose être dominant dans la maladie du greffon humaine.

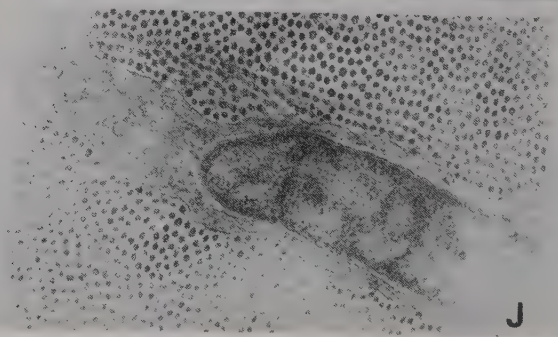

A
B
C
D
E


F


G


H


I


J

CONCLUSIONS

L'homogreffe de la cornée humaine est considérée comme une greffe privilégiée. Cependant trop d'échecs sont encore dus à une vraie maladie du greffon. En effet, à l'époque actuelle, où les techniques chirurgicales ont permis d'éliminer pratiquement toutes les causes mécaniques de l'échec de la greffe de cornée, c'est essentiellement aux réactions immunitaires que l'on a affaire, parfois de façon dramatique.

Ces réactions revêtent en pathologie humaine deux aspects : l'un, le plus fréquent, le plus caractéristique, commence par des précipités blancs à la face postérieure du greffon, précipités que l'on suppose être des amas de cellules immunologiquement compétentes ; l'autre aspect, moins franc dans son déroulement, commence et se caractérise surtout par l'envahissement vasculaire.

C'est dire l'intérêt de découvrir une méthode expérimentale d'étude de la greffe de cornée, donc dominée par les applications cliniques.

Cette technique qui permet de réaliser des homogreffes chez le lapin avec une proportion de succès comparable à l'homogreffe humaine, nous semble devoir être un excellent moyen d'étude des phénomènes histologiques et cytologiques de l'incorporation du greffon et des phénomènes immunitaires.

Pour notre part, nous avons constaté, sur une série de 61 greffes expérimentales : 47,5 % de greffons clairs ; 44,3 % de greffons opaques et 3,3 % d'infection post-opératoire.

Parmi les greffes opaques, un certain nombre — qu'on peut évaluer à environ 10 % — relevait de causes mécaniques soit patentes, soit révélées par l'étude histologique. Le reste semble bien être du domaine du « rejet », comme le suggère le fait que les cornées de lapins « croisés » entre eux sont dans l'ensemble, ou claires l'une et l'autre, ou opaques l'une et l'autre.

Sur 15 lapins étudiés en microscopie optique ou électronique, 7 ont présenté des stigmates interprétables comme des conflits immunitaires. Dans un cas où la séquence clinique fut évocatrice, est apparu nettement un désordre important des plans postérieurs du greffon.

On a également souvent trouvé des causes mécaniques d'échecs. Ceci n'est pas pour nous étonner, compte tenu de la minceur de la cornée chez le lapin (en moyenne 3/10^{e} de millimètre); mais qui n'en ôte rien aux bénéfices que l'étude des kératoplasties expérimentales peut apporter avec cet animal si pratique et si répandu dans les laboratoires de recherche.

Vu, le Doyen :
BROUET

Vu, le Président de Thèse :
OFFRET

Vu et Permis d'imprimer,
le Recteur de l'Académie de Paris :
ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

Babel (J.). — Les réactions immunologiques aux greffes de cornée. Aspect histologique. (*Congrès Heidelberg,* septembre 1969.)

Basu (P.K.), Sarkar (P.), Carre (F.) — Use of karyotype as biologic cell marker. In a study of immunological reaction on the cellular elements of corneal heterografts. (*Amer. J. Ophthal.,* 1964, **58**, 5, 569-572.)

Basu (P.K.), Milles (I.), Ormsby (M.L.). — Sex chromatin as a biologic cell marker in the study of the fate of corneal transplants. (*Amer. J. Ophthal.,* 1960, 49/3, 513-515.)

Basu (P.K.). — Some aspects of the cornenal graft reaction and its control. (*Symposium on « Suppresion of Graft Rejection » held Little Rock,* November 5-6, 1965 ; — *Surv. Ophthal.,* 1966, **11**, 4, part 2, 522-532.)

Calmettes (L.), Déodati (F.), Planel (H.) et Bec (P.) — Etude histologique et histochimique de l'épithélium antérieur de la cornée et de ses basales. (*Arch. Ophtalm. Paris,* 1956, **16**, 481-506.)

Castroviejo (R.) — Keratoplasty : on historical and experimental study, including a new method. (*Am. J. Ophthal.,* 1932, **15**, pp. 825-905.)

Citroni (M.), Carli (L. de), Carli-Nuzzo (F. de). — Il destino del lembo onnestato della cheratoplastica studiato con l'osservazione dei cromosomi sessuali. (*Soc. Oftal. Ital.,* Torino, 12-15 aprile 1962 ; — *Atti Soc. Oftal. Ital.,* 1962, **20**, 415-419.)

Cleasby (G.W.), Webster (R.G.), Royo (P.E.), Vincent (N.J.). — Experimental modification of corneal graft reactions. (*Symposium on « Suppression of Graft Rejection » held Little Roch,* November 5-6, 1965 ; — *Surv. Ophthal.,* 1966, **11**, 4, part 2, 533-544.)

Cleasby (G.W.), Byland (S.), Webster (R.G.). — A simplified technique for experimental keratoplasty. (*Amer. J. Ophthal.,* 1965, **60**, 5, 894-899.)

Daguet. — L'immunologie médicale. (Paris, 1968.)

Espiritu (R.B.), Kara (G.B.), Tabowitz (D.). — Studies on the healing of corneal grafts. II. The fate of the endothelial cells of the graft as determined by sex chromatin studies. (*Amer. J. Ophthal.,* 1961, 52/1, 91-94.)

Gedda (L.), Milani-Camparetti (M.) — Immunogenetical considerations on corenal transplantation. (*Acta Genet. Med.,* 1965, **14**, 219-225 ; — Analyse in : *Amer. J. Ophthal.,* 1967, **64**, 2, 339.)

Geeraets (W.), Lederman (R.E.), Woo (M.), Du Pont Guerry. — *In vivo* corneal graft reactions after short-term storage. An experimental study. (*Amer. J. Ophthal.,* 1965, **60**, 1, 28-39.)

Greaves (D.P.) — Experimental penetrating keratoplasty. (*Coll. Rep. Inst. Ophthalm.,* 1954-1955, **7**, 135.)

Guyot (D.). — Les réactions immunitaires après kératoplasties transfixiantes chez l'homme. (*Thèse,* Paris, 1969.)

Hall (L.W.). — Anesthesia for surgery of the eye in animals. Aspects of comparative ophthalmology, pp. 259-265. (London, Ed. Pergamon Press, 1965.)

Hamard (H.) — Effet inhibiteur des radiations ionisantes sur la cicatrisation cornéenne. Etude expérimentale avec les rayonnements gamma et bêta. (*Thèse,* Paris, 1965.)

Heeley (D.M.). — Corneal grafting in the dog. In « Aspects of comparative ophthalmology ». (London, O. Graham-Jones, Pergamon Press edit., 1966, 178-185.)

Jakus (H.A.). — Ocular fine structure. Selected electron micrographs. (London, Churchill, 1964.)

Kern (M.), Leibowitz (H.M.), Elliott (J.H.). — Chemotherapeutic immuno-suppression of the corneal graft reaction. IV : Systemic corticosteroids. (*Arch. Ophthal.,* Chicago, 1967, **78**, 6, 769-773.)

KHODADOUST (A.A.) — Penetrating keratoplasty in the rabbit. (*Amer. J. Ophthal.*, 1968, **66**, 5, 899-905.)

LAWS (H.W.) — An experimental investigations of three techniques of perforating keratoplasty. (*Trans. Canad. Ophthal. Soc.*, 1951, **14**, 94-101.)

LANZIERI (M.). — Etude expérimentale des méthodes de conditionnement non spécifique du receveur pour les greffes incompatibles de cornée. (*Symposium « Biologie de la Cornée et Kératoplastie »*, Clin. Ophtal. Hôtel-Dieu, Paris, 10 mai 1967 ; — *Arch. Ophtal.* Paris, 1967, **27**, 8, 795-802.)

MALIK (S.R.K.), GUPTA (A.K.), SOTA (L.D.). — Fate of endothelium in cornenal homografts. An experimental study. (*Brit. J. Ophthal.*, 1968, **52**, 12, 893-897.)

MEYER (H.J.). — Immunologische Probleme bei der Keratoplastik (*Tagung d. Augenärzte Nordwestdeutschlands*, 28 April 1967 ; — *Klin. Mbl. Augenheilk.*, 1967, **151**, 5, 759-760.)

MOORE (T.E.), ARONSON (S.B.). — Penetrating keratoplasty in the rabbit. (*Ass. Res. Ophthal. Tampa*, April 29-May 1, 1968 ; — *Invest. Ophthal.*, 1968, **7**, 1, 117.)

NELKEN (E.), NELKEN (D.), MICHAELSON (T.C.), GUREVITCH (J.) — Late clouding of experimental corneal grafts. (*Arch. Ophthal.*, Chicago, 1961, 65/4, 589-590.)

O'GAWA (G.M.), GUYTON (J.S.), SANDERS (W.R.), INCH (F.A.B.), ELLIS (R.C.). — Behavior of clear penetrating corneal homografts in rabbits, after sensitizing to donor skin. (*Amer. J. Ophthal.*, 1966, **61**, 2, 267-273.)

OFFRET (G.), BRÉGEAT (P.), DHERMY (P.), DUBOIS-POULSEN (A.), FAURE (J.P.), GUILLAUMAT (L.), PAYRAU (P.), POULIQUEN (Y.). — Les greffes de cornée. (*Cah. Coll. Méd. Hôp. Paris*, 1967, **8**, 5, 365-382.)

OFFRET (G.) et HAYE (C.). — La membrane basale de l'épithélium cornéen. Etude histo-pathologique. (*Arch. Ophtalm. Paris*, 1959, 19, 126-159.)

PAUFIQUE (L.), SOURDILLE (G.P.), OFFRET (G.). — Les greffes de la cornée (kératoplasties). (*Rapport S.F.O.*, 1948.)

PAYRAU (P.), POULIQUEN (Y.), FAURE (J.P.), OFFRET (G.). — La transparence de la cornée. (*Rapport S.F.O.*, 9 mai 1967.)

Polack (F.M.), Smelser (G.) et Rose (J.). — The fate of cells in heterologous corneal transplants. (*Invest. Ophthal.*, 1963, **2**, 335-360.)

Polack (F.M.). — Four years retention of 3 H-thymidin by corneal endothelium. (*Arch. Ophthal.*, Chicago, 1966, 75, 659-660.)

— The pathological anatomy of the corneal graft rejection. (*Int. Cong. Ophthal. Munich*, August 14-19, 1966 ; — *Acta Conc. Ophthal. Ger.*, 1966, 2, 885-890.)

— Modification of immune graft response by azathioprin. (*Symposium on « Suppression of Graft Rejection » held Little Rock*, November 5-6, 1965 ; — *Surv. Ophthal.*, 1966, **11**, 4, part 2, 545-553.)

— The effect of ocular inflammation on corneal grafts. (*Amer. J. Ophthal.*, 1965, **60**, 2, 259-269.)

— Histopathological and histochemical alterations in the early stages of corneal graft rejection. (*J. Exp. Med.*, 1962, **116**, 709-718 ; — Analyse in : *Bull. Inst. Pasteur*, 1964, **62**, 1, 291.)

Remky (H.), Mimura (Y.). — Antikörper gegen Hornhaut transplantate. (*Klin. Mbl. Augenheilk.*, 1965, **146**, 5, 675-682.)

Robert (L.), Payrau (P.), Pouliquen (Y.), Parlebas (J.) et Robert (B.). — Role of a structural glycoprotein of corneal stroma in transplantation immunity. (*Nature*, London, 1965, **207**, 383-385.)

Salzer. — Uber die Regeneration der kaninchenshornhaut. (*Arch. f. Aug.*, 1911, Bd 69, S 272-317.)

Salzer. — Uber Hornhaut regeneration nebst neuer Methode des Hornhautabrasion. (*T. Aug.*, 1923, Bd 49, H 5.)

Sanna (G.), Rivara (A.) — Ricerche sperimentali nella riposta anticorpale del siero e dell'umore acqueo dopo trapiante corneale omologo ed eterologo in animali normali ed attivamente immunizzati. (*Ann. Ottal.*, 1962, 88/6, 218-230.)

Scheppard (L.B.) (Richmond, Va.). — The anatomy and histology of the normal rabbit eye with special reference to the ciliary zone. (*Arch. Ophthalm.*, December 1961, **66**, 6, 159.)

Sicault (R.), Payrau (P.). — Une technique de kératoplastie transfixiante chez le lapin. (*Arch. Ophtal. Paris*, 1967, **27**, 8, 775-782.)

SICAULT (R.), BERNARD (J.A.), PAYRAU (P.). — Nouvelle méthode simplifiée de kératoplastie transfixiante chez le lapin. Etude sur 36 autogreffes. (*Ann. Oculist.*, Paris, 1969, **202**, n° 3, pp. 209-217.)

STANSBURG (F.C.), WADSWORTH (J.A.C.). — Surgical technique of corneal transplantation in rabbits. (*Amer. J. Ophthal.*, 1947, **30**, 8, 968-978.)

SMOLIN (G.). — Effect of antilymphocyte serum on the homograft reaction. (*Ass. Res. Ophthal. Tampa*, April 29-May 1, 1968 ; — *Invest. Ophthal.*, 1968, **7**, 1, 113.)

— Suppression of corneal graft reaction by antilymphocyte serum. (*Arch. Ophthal.*, Chicago, 1968, **79**, 5, 603-610.)

TENG (C.C.). — The fine structure of the corneal epithelium and basement membrane of the rabbit. (*Amer. J. Ophthalm.*, 1961, 51, 278-297.)

THOMAS (J.W.T.). — Transplantation of the cornea ; a preliminary report of a series of experiments on rabbits, together with a demonstration of four rabbits with clear corneal grafts. (*Trans. Opht.*, Soc. Unit. Kingdom, 1930, **50**, 127.)

THOMAS (J.W.T.). — An experiment in keratoplasty. (*Proc. Roy. Soc. Med.*, 1930, **23**, 1437-1442.)

— Successful grafting of the cornea in rabbits. (*The Lancet*, 1931, **1**, 335.)

— Experimental transplantation of cornea in a rabbit to replace central corneal opacity. (*Trans. Opht. Soc.*, 1931, **51**.)

— Experimental grafting. (*Brit. J. Opht.*, 1934, **18**, 129-142.)

TSUMURA (R.). — The mechanism of immuno-suppression of donor serum injection in heterokeratoplasty. (En japonais, analyse Inst. Chibret.) (*Folia Ophthal. Jap.*, 1968, 19, 2, 283-293.)

VENCO (L.). — Considérations sur les différentes phases du processus de coaptation d'un transplant homoplastique de cornée. (*Ann. di Ott.*, 1946, **77**, 9, 513-545.)

WATANABE (S.), TSUTSUI (J.) — Immunochimical alteration of proteins in lyophilized corneal hetero graft. (*Arch. Ophthal.*, Chicago, 1962, **67**, 1, 48-55.)

IMPRIMERIE R. FOULON & CIE, 29, RUE DEPARCIEUX, PARIS XIV[e]